

Typisierung der Schwer- und Leichtketten bei 826 Paraproteinämien

Barbara Zydek

1970

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. H. Schwiegk
und dem Klinisch-Chemischen Institut des
Städtischen Krankenhauses München-Harlaching
Chefarzt: Priv. Doz. Dr. M. Knedel

Typisierung der Schwer- und Leichtketten bei 826
Paraproteinämien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Barbara Zydek
aus Gleiwitz

München 1970

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Priv.Doz.Dr.M.Knedel

Mitberichterstatter : Prof.Dr.H.Schwiegk

Dekan : Prof.Dr.E.Kraft

Tag der mündlichen Prüfung : 5.5.1970



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 <u>Einleitung</u>	1
2 <u>Allgemeiner Teil</u>	4
2.1 Definition, Einteilung und Funktion der normalen Ig	4
2.2 Paraproteine	5
2.2.1 Definition	5
2.2.2 Vorkommen	6
2.2.3 Bildungsort	6
2.3 Charakterisierung der normalen Ig und der Paraproteine	8
2.3.1 Fragmentierung	11
2.3.1.1 durch Papain, Pepsin, Trypsin, Cyanogenbromid	11
2.3.1.2 durch Mercaptane	12
2.3.2 Struktur der Polypeptidketten	14
2.3.2.1 Leichtkettenstruktur	14
2.3.2.1.1 Variable Region	16
2.3.2.1.2 Konstante Region	17
2.3.2.2 Schwerkettenstruktur	18
3 <u>Spezieller Teil</u>	21
3.1 Fremduntersuchungen	21
3.1.1 Konzentration der normalen Ig	21
3.1.2 Frequenzverhältnis der Leichtketten der Ig im Normalserum	22
3.1.3 Häufigkeit der verschiedenen Paraproteinklas- sen	23
3.1.4 Frequenzverhältnis der Leichtketten bei Para- proteinämien	24
3.2 Eigene Untersuchungen	27
3.2.1 Untersuchungsmaterial	27
3.2.2 Methoden	28
3.2.2.1 Papierelektrophorese	28
3.2.2.2 Caf-Elektrophorese	28

	Seite
3.2.2.3 Isolierung der IgM-Paraproteine	28
3.2.2.4 Immunelektrophorese	29
3.2.2.5 Ouchterlony-Diffusionstest	29
3.2.3 Ergebnisse	29
3.2.3.1 Verteilung und Häufigkeit der Paraproteinklassen	29
3.2.3.2 Frequenzverhältnis der Leichtketten bei Paraproteinämien	31
3.2.3.2.1 IgG-Paraproteinämien	31
3.2.3.2.2 IgA-Paraproteinämien	32
3.2.3.2.3 IgM-Paraproteinämien	33
3.2.3.2.4 B.J.-Proteinämien	34
3.2.3.2.5 Doppelparaproteinämien	34
3.3 Diskussion	35
3.4 Zusammenfassung	44
4 <u>Literaturverzeichnis</u>	53

Verwendete Abkürzungen:

Ig	= Immunglobuline bzw. Immunglobulin
BJP	= Bence-Jones-Proteine bzw. Bence-Jones-Protein
K	= Kappa
L	= Lambda
H.-CH.	= Heavy-Chain-Disease
D.-P.	= Doppelparaproteinämien

1. EINLEITUNG

Die ersten antigen-analytischen Untersuchungen an Serumproteinen von Plasmozytompatienten stammen von Wuhrmann, Wunderly, Hässig und Hugendobler (174) im Jahre 1949. Bei diesen Untersuchungen fiel den Autoren auf, daß das von ihnen hergestellte Anti-Beta-Myelomserum von Kaninchen nach Absättigung mit Normalserum im Ringtest noch kräftig mit dem homologen Myelomserum präzipitiert. Diese Befunde wurden durch weitere Untersuchungen von verschiedenen Autoren teils bestätigt, teils widerlegt. Kunkel, Slater und Good (89) kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Gamma-Myelomproteine, sowie ein Teil der Beta-Myelomproteine eine nahe Antigenverwandtschaft zu den normalen Serum-Gammaglobulinen besitzen und die Mehrzahl der Beta-Myelomproteine eine nahe Antigenverwandtschaft mit einer im normalen Serum nur in geringer Menge enthaltenen Beta-Globulinfraktion aufweisen. Nachdem Oudin und Ouchterlony (114, 115, 116, 117) die Methode der Immunpräzipitation im Agargel entwickelten, richteten verschiedene Autoren ihre Bemühungen dahin aus, durch diese neue Methode das Myelomprotein antigenanalytisch zu untersuchen und ihre Beziehungen zu den normalen Gammaglobulinen weiter aufzuklären. Die Anwendung dieser immunologischen Methode erlaubte einen tieferen Einblick in das Gefüge der Plasmaproteine. Korngold und Lipari (86) konnten mit dieser Agarpräzipitationsmethode zeigen, daß:

1. die Gammaglobuline trotz ihrer unterschiedlichen Wanderung im elektrischen Feld antigenanalytisch verwandt sind,
2. die Myelomproteine antigenanalytisch eine partielle Identität mit normalen Gammaglobulinen besitzen,
3. die Antiseren gegen die Myelomproteine nicht nur spezifische Antikörper gegen das homologe Antigen, sondern auch Antikörper gegen einige andere Myelomproteine enthielten.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß den Myelomproteinen gewisse Determinanten der normalen Gammaglobuline fehlen. Sie enthalten wahrscheinlich an Stelle der fehlenden normalen Determinanten individual- und gruppenspezifische Sonderdeterminanten.

Die Immunelektrophorese nach Grabar und Williams (62) eröffnete einen neuen Weg zur Untersuchung der Paraproteine. Bei dieser Methode werden folgende Eigenschaften der Eiweißkörper gleichzeitig untersucht:

1. physiko-chemische Eigenschaften, wie Wanderungsgeschwindigkeit, Form des Proteinmoleküls, sowie das Molekulargewicht,
2. immunologische Eigenschaften,
3. chemische Eigenschaften, die besonders bei verschiedenen Färbemethoden in Erscheinung treten.

Grabar und Mitarbeiter (60, 61) konnten mit dieser Methode zeigen, daß es sich bei den in der Papierelektrophorese im Gamma-, Beta-, Phi- oder selten Alpha-Bereich als schmalbasige, hohe Paraproteingradienten in Erscheinung tretende Myelomproteine stets um atypische Gammaglobuline handelt, die jedoch mit den normalen Gammaglobulinen immunochemisch verwandt sind. In der folgenden Zeit beschäftigten sich viele Autoren mit dem Grad der immunologischen Verwandtschaft zwischen Plasmaproteinen und Gammaglobulinen. Es zeigen sich Beispiele für fast identische und solche, für stark abgewandelte Strukturen. Die Ursache dieser teils sich widersprechenden Auffassungen liegt nicht in der fehlerhaften Untersuchung, sondern in der Fehlinterpretation der exakten Befunde auf Grund der damals herrschenden noch lückenhaften Kenntnis über die Zusammensetzung der normalen Immunglobuline.

Bis heute wurden im menschlichen Serum 5 große Gruppen von Immunglobulinen aufgedeckt: IgG, IgA, IgM, IgD und IgE. Diese Proteine haben im Prinzip einen einheitlichen

Aufbau: sie bestehen aus 2 Schwer(H)- und aus 2 Leicht(L)-Ketten. Die Schwerketten sind klassenspezifisch. Die Leichtketten können mit Hilfe von präzipitierenden Antiseren in 2 Antigentypen Kappa und Lamda eingeteilt werden, die jeweils für die Verwandtschaft der einzelnen Ig verantwortlich sind. Im Gegensatz zu den Ig im menschlichen Normalserum besitzen die einzelnen Paraproteine nur eine Leichtkettenart (Kappa oder Lambda). Sie sind somit nicht nur elektrophoretisch und sedimentanalytisch einheitlich, sondern auch strukturanalytisch. Die Kappa/Lambda-Verteilung ist bei den einzelnen Paraproteinklassen (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) unterschiedlich.

Häufig wurde versucht zwischen dem klinischen Bild, der Ansprechbarkeit auf die Therapie, sowie verschiedener anderer Kriterien bei paraproteinämischen Erkrankungen und dem immunologischen Leichtkettentyp eine Beziehung herzustellen.

In der vorliegenden Arbeit soll anhand immunologischer Untersuchungen an Seren von Patienten mit Paraproteinämien, sowie unter Berücksichtigung der diesbezüglich mitgeteilten Ergebnisse zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

1. Häufigkeit der verschiedenen Paraproteinämien,
2. Vergleich der relativen Häufigkeit der einzelnen Paraproteinklassen mit dem prozentualen Anteil der einzelnen Immunglobuline im Normalserum,
3. Frequenzverhältnis der Leichtkettentypen bei den einzelnen Paraproteinklassen.

2. ALLGEMEINER TEIL

2.1 DEFINITION, EINTEILUNG UND FUNKTION DER IMMUNGLOBULINE.

1939 wiesen Tiselius und Kabat (162) in der menschlichen Serumfraktion mit der geringsten elektrophoretischen Mobilität Antikörperaktivität nach. Antikörperaktivität wurde später auch in den Beta- und Alpha₂-Fraktionen gefunden (10). Nach dem Vorschlag von Hitzig (79) und Heremans (73) bezeichnet man daher alle Proteine mit Antikörperaktivität als Immunglobuline.

Unter Immunglobulinen versteht man nach der Definition der WHO (15) von 1964 Eiweißkörper tierischen Ursprungs mit Antikörperaktivität und Proteine, die ihnen in chemischer Struktur und Antigenspezifität ähneln. Dazu gehören auch Proteine, für die Antikörperaktivität noch nicht nachgewiesen werden konnte, also Paraproteine, Bence-Jones-Proteine und natürlich vorkommende Untereinheiten normaler Immunglobuline. Bis heute sind 5 Immunglobulin-klassen bekannt geworden:

<u>neuere Bezeichnung:</u>	<u>frühere Bezeichnung:</u>
IgG oder Gamma-G	Gamma ₂ , 7SGamma, 6.6SGamma, GammaSS
IgA oder Gamma-A	Beta ₁ A, Beta ₂ A, Beta-X-Globulin
IgM oder Gamma-M	Beta ₁ M, Beta ₂ M, 19SGamma, Makroglobulin
IgD oder Gamma-D	
IgE oder Gamma-E	

2.2 DIE PARAPROTEINE.

2.2.1 Definition und Einteilung.

Der Berliner Pathologe Apitz (1) bezeichnet in seiner 1940 erschienenen Arbeit als Erster pathologische Eiweißkörper, die bei Plasmozytomträgern gefunden werden, als Paraproteine. Unter diesem Begriff faßt Riva (138) Proteine zusammen, die sich von den normalen Komponenten des Serum-eiweißgemisches eindeutig unterscheiden und für die individual- bzw. krankheitsspezifische Antigendeterminanten nachgewiesen werden können. Hässig (68) definiert Paraproteine als funktionell inerte, abnorm strukturierte Proteine aus der Immunglobulingruppe. Unter Paraproteinen versteht man heute Serumeiweißkörper aus der Gruppe der normalen Ig, die sich von ihnen durch ihre Primärstruktur, Antigenität und Funktion unterscheiden. Man bezeichnet besonders in der angelsächsischen Literatur Paraproteine als monoklonale Ig, da sie bei jedem Individuum nicht nur elektrophoretisch, sondern auch strukturell einheitlich sind und wahrscheinlich von einem entarteten Zellklonus (monoklonal) stammen. Dementsprechend werden die Erkrankungen, die mit Fehlbildungen der Ig einhergehen, als Immun-, Para- bzw. Gammaglobulinopathien bezeichnet. Gebräuchlich sind auch die Begriffe "myeloma protein" für Gamma-G-, Gamma-A-, Gamma-D- und Gamma-E-Paraproteine, sowie monoklonale Makroglobuline für Gamma-M-Paraproteine. Entsprechend der Einteilung der normalen Ig unterscheidet man IgG-, IgA-, IgM-, IgD- und IgE-Paraproteine vom Kappa- oder Lambdatyp. Werden nur Leicht- oder Schwerketten bzw. Fc-Fragment gebildet, spricht man von Bence-Jones-Proteinämie oder Proteinurie bzw. Heavy-Chain-Disease.

2.2.2 Vorkommen.

Bei Erkrankungen des lymphoplasmoreticulären Zellsystems, wie Multiples Myelom, Morbus Waldenström, Schwerekettenkrankheit (Heavy-Chain-Disease bzw. Franklin's-Disease), paraproteinämischen Reticulosen und Leukämien, kommt es zur Störung der Immunglobulinsynthese mit Bildung von Paraproteinen. Die bei diesen Erkrankungen in meist großer Menge gebildeten und sowohl im Serum als auch im Urin faßbaren, homogenen Globuline und Globulinfragmente sind monoklonal, d.h. molekular einheitliche Ig bzw. deren konstituierende Polypeptidketten.

Das Vorliegen einer Paraproteinämie äußert sich durch das Auftreten eines homogenen, schmalbasigen Gradienten in der Elektrophorese des Serums oder/und des Urins, der vom Gamma bis Alpha2-Bereich gefunden werden kann und den Riva (138) mit M (Myelom, Makroglobulinämie) bezeichnet. Das Auftreten eines solchen M-Gradienten ist aber nicht ausschließlich pathognomisch für Multiples Myelom und verwandte Erkrankungen, man findet solche Veränderungen auch bei vielen anderen Krankheiten und im Serum völlig Gesunder. Waldenström bezeichnet solche Erscheinungen als "essentielle, benigne, monoklonale Gammopathien" (167). Andererseits kommen Plasmozytome auch ohne Paraproteinämie vor.

2.2.3 Bildungsort.

Entstehungsort der Paraproteine bei malignen Erkrankungen sind neoplastisch entartete Zellelemente des lymphoplasmoreticulären Systems. Paraproteine sind gewöhnlich homogen. Man glaubt, daß es zur malignen Transformation eines einzelnen Zellklonus kommt, der ein einheitliches Protein bildet. Für die "one clone/one protein" Theorie sprechen:

die elektrophoretische Homogenität, die Individualspezifität und das Vorkommen nur eines Leichtkettentyps, besonders wenn gleichzeitig ein Bence-Jones-Protein vom selben Antigentyp wie das Paraprotein auftritt (44). Immunofluoreszenzuntersuchungen der Plasmazellen von Myelompatienten durch Solomon und Mitarbeiter (154) sprechen für die Bildung nur eines Immunglobulintypes durch einen Plasmazellklonus. Auch die Ergebnisse von Mellors und Korngold (99) bestätigen dies. Burtin und Buffe (16) wiesen mit Antiseren, die mit Fluorescein oder Rhodamin markiert waren, in der Milz und den Lymphknoten Gesunder und Myelomkranker in der Regel nur ein Ig in einer Zelle nach. Jeweils eine Schwerekettenklasse und einen Leichtkettentyp fanden Bernier und Cebra (7) in Lymphoidzellen von Menschen und Kaninchen mittels Fluoreszenz. Die seltenen Befunde von Doppelparaproteinämien mit gleichem oder unterschiedlichem Leichtkettentyp bzw. Schwerekettenklasse und das Vorkommen von Paraproteinämien mit 2 immunologisch differierenden Bence-Jones-Proteinen werfen die Frage auf, ob die pathologischen Eiweißkörper von einem oder mehreren entarteten Zellkloni entstehen. Bei den meisten in der Literatur mitgeteilten Doppelparaproteinämiefällen wurden diesbezüglich keine speziellen Untersuchungen durchgeführt. Der eindeutige Nachweis der biklonalen Herkunft von zwei Paraproteinen in einem Serum (IgGK + IgAL) gelang Rosen et al (142) und Dittmar (30) mittels Immunfluoreszenz. Costea und Mitarbeiter (25) konnten jedoch bei einem Patienten mit Multiplen Myelom und Doppelparaproteinämie (IgG + IgA) zeigen, daß die beiden Paraproteine von einer Zelle gebildet werden (one clone/multiple proteins). Für die "one clone/multiple proteins" Theorie sprechen auch die Befunde von Potter (126). Durch intraperitoneale Mineralöleinspritzungen erzeugte er bei Mäusen Myelome, bei denen ein Zelltyp mehrere Paraproteine synthetisierte. Die Keimzentren der Lymphfollikel der weißen Milzpulpa enthielten Gammaglo-

buline sowohl vom Kappa- als auch Lambdatyp, während in der roten Milzpulpa zwei Plasmazellpopulationen vorhanden waren, die sich hinsichtlich des Typs der Gammaglobulin-Produktion unterschieden (121). Erst kürzlich wiesen Biozzi et al (9) die Bildung von Gamma1- und Gamma2-Globulinen in der gleichen Zelle nach. Betrachtet man die experimentellen Ergebnisse über die Bildung normaler Immunglobuline bzw. Antikörper und die zytologischen sowie fluoreszenzmikroskopischen Befunde bei Doppelparaproteinämien, so müßte man postulieren, daß beide Möglichkeiten (one clone/one protein bzw. one clone/multiple proteins) theoretisch gegeben sind. Bei Patienten mit Paraproteinämien ohne Erkrankung des plasmolymphoreticulären Zellsystems müßte man annehmen, daß die normale Plasmazelle Bildungsstätte dieser Globuline ist. Damit wären wir plötzlich gezwungen unsere bisherigen Vorstellungen über die Entstehung der Paraproteine und darüber, ob Paraproteine im engeren Sinne überhaupt vorkommen, zu überprüfen.

2.3 CHARAKTERISIERUNG DER IG UND PARAPROTEINE.

Für die Entwicklung unserer Vorstellung vom Aufbau der normalen Ig spielten die Paraproteinämien eine wichtige Rolle. Die Paraproteine sind physiko-chemisch einheitlich und somit besonders für die Strukturanalyse geeignet. Die Ergebnisse der enzymatischen und chemischen Spaltung mit Auftrennung einzelner Polypeptidketten bzw. Fragmente faßte Porter (24) zusammen und schlug 1962 die 4 Kettenstruktur des Antikörpermoleküls für Kaninchen-IgG vor.

Die normalen Ig bzw. ihre korrespondierenden Paraproteine bestehen jeweils aus zwei Schwer- und Leichtketten, die

durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Die Makroglobuline sind aus je 5 solcher Strukturelemente aufgebaut.

Die Schwer- bzw. H-Ketten sind klassenspezifisch. Sie werden als Gamma-, Alpha-, Mü-, Delta- und Epsilon-Ketten bezeichnet. Außer diesen Hauptklassen fanden Grey und Kunkel (65) mit Antiseren gegen gereinigte, menschliche IgG-Paraproteine, Ballieux et al mit Antiseren gegen Fragmente der Schwerketten (5) und mit Affenseren gegen gepooltes menschliches IgG nach Absorption mit anderen Paraproteinen der Klasse-G (159) vier weitere Untergruppen dieses Typs. Auch hier sind die spezifischen Antigene auf die Gamma-H-Ketten lokalisiert. Man bezeichnet sie mit Gamma1, Gamma2, Gamma3 und Gamma4. Auf Grund zweier neuentdeckter Alpha-Ketten gelang auch bei den IgA eine Unterteilung (45, 88, 160, 164). 1965 fanden Harboe und Mitarbeiter (70) bei Patienten, die an Makroglobulinämie litten, ebenfalls für die Mü-Kette zwei Untergruppen.

Mit der Ouchterlony-Diffusionstechnik entdeckten Korngold und Lipari (86, 87) mit Kaninchenantiseren gemeinsame Antigendeterminanten bei normalen Immunglobulinen und Paraproteinen. Sie unterschieden 3 Typen, die mit I, II und III bezeichnet wurden. Einige Jahre später identifizierte Korngold (85) Typ III als IgA-Paraprotein. Unabhängig und zur gleichen Zeit wurden Bence-Jones-Proteine von zwei Forschungsteams auf Grund der Existenz zweier Antigentypen in zwei Gruppen eingeteilt: Typ B und A bzw. I und II (18, 87). Weitere Veröffentlichungen zeigten, daß alle Paraproteine, Bence-Jones-Proteine, normale Immunglobuline und niedermolekulare Fragmente von Immunglobulinen des Urins Gesunder in zwei Leichtkettentypen klassifiziert werden können (40, 42, 95, 96, 102). Die Identifikation der beiden Typen erfolgte mittels Immunelektrophorese oder Ouchterlony-Diffusionstest an gereinigten Molekülen unter Anwendung von Antiseren gegen isolierte

Bence-Jones-Proteine oder von menschlichen Anti-Normal-IgG-Seren. Die letzteren waren mit dem entsprechenden Paraprotein absorbiert. Da die pathologischen Globuline jeweils nur mit einem spezifischen Antiserum gegen die Leichtketten reagieren, konnte man, im Gegensatz zu den normalen Ig, die stets mit beiden Leichtkettentypen im Serum vertreten sind, das Vorkommen nur eines Antigentyps bei einem individuellen Paraprotein beweisen (42, 51, 91, 95, 172). Nach Vereinbarung der WHO (15) werden seit 1964 Antigentyp I bzw. B als Kappa und Antigentyp II bzw. A als Lambda bezeichnet.

Moleküle vom Typ Kappa und Lambda unterscheiden sich weder im Hexosegehalt, der Sedimentation, der elektrophoretischen Mobilität und den chromatographischen Eigenschaften (40, 42, 51, 96, 86).

Allotypien, vererbare Antigeneigenschaften der Immunglobuline, entdeckte Oudin (118) erstmals bei Kaninchen. Grubb (66) fand diese Varianten beim Menschen. Allotypien können sowohl auf die Schwerketten (sogenannte Gm-Faktoren), als auch auf die Leichtketten (sogenannte Inv bzw. Oz-Faktoren) lokalisiert sein. Gm-Eigenschaften sind ausschließlich auf die H-Ketten der IgG beschränkt und konnten weder für die anderen Ig-Klassen, noch für Bence-Jones-Proteine nachgewiesen werden (41, 54, 72, 97, 110). Die Gm-Eigenschaften werden in bestimmten, festgelegten Kombinationen, die sich von Rasse zu Rasse unterscheiden, vererbt (22).

Inv-Faktoren sind auf die L-Ketten von Typ Kappa, Oz-Eigenschaften auf die Leichtketten von Typ Lambda der normalen Ig, Paraproteine, Bence-Jones-Proteine beschränkt. Man unterscheidet Eigenschaft Inv (a) und Inv (b) bzw. Oz (+) und Oz (-) (36, 141, 156).

2.3.1 Fragmentierung.

Zur Aufklärung der Struktur der Antikörpermoleküle wurden verschiedene Methoden entwickelt, um diese Proteine in kleinere Fragmente zu spalten.

2.3.1.1 Papain, Pepsin, Trypsin, Cyanogenbromid.

Porter (123) gelang durch Hydrolyse mit kristallinen Papain Kaninchen IgG in drei Fragmente zu spalten. Stammt das behandelte IgG von einem Antikörper, so ist die Fähigkeit Antigen zu bilden für Fragment I und II erhalten. Da die Spaltprodukte aber univalent sind, kann das Antigen nicht präzipitiert werden. Beide Fragmente haben ähnliche chemische und biologische Eigenschaften. Später wies man nach, daß Fragment I und II nicht vom selben Molekül stammten. Man hatte sie nur deshalb zu gleichen Anteilen erhalten, da das verwendete IgG-Präparat ein Gemisch verschiedener Gammaglobuline war. Palmer und Mitarbeiter (120) erhielten nach chromatographischer Trennung zwei identische Spaltstücke: I oder II und III. Fragment III, dessen Molekulargewicht 80000 beträgt, besitzt die Antigenspezifität des Originalmoleküls. Es kristallisiert leicht. Außerdem ist es für die Bindung des Komplements (158), den Transport der Antikörper durch die Plazenta (11) und die hautsensibilisierenden Eigenschaften (119) verantwortlich. Franklin (50) erweiterte diese Befunde für menschliches IgG, nur bezeichnete er die Fragmente mit A, B und C. Olins und Edelman (111) bestätigten diese Ergebnisse. Sie nannten die Fragmente des Papaindigest nach ihrer elektrophoretischen Mobilität mit F = fast und S = slow.

Nach internationaler Vereinbarung werden Fragment I und II, A und C, sowie S jetzt allgemein als Fab bezeichnet,

Fragment III, B und F als Fc (15).

Angriffspunkt der Papainspaltung ist die intrachain Disulfidbindung der N-terminalen Region der H-Kette, wodurch das 7S-Molekül in 2 identische 3.5S-Fab-Fragmente und ein 3.5S-Fc-Fragment gespalten wird.

Durch das proteolytische Ferment Pepsin wird IgG in ein Fragment mit einem Molekulargewicht von 100000 und ein Fc'-Fragment hydrolysiert. Das Fragment mit dem Molekulargewicht von 100000 enthält beide Antigen-bindenden Seiten: (Fab')₂ und ist deshalb zur Präzipitation des Antigens befähigt. Durch Reduktion kann dieses 5S-Dimer in zwei univalente 3.5S-Fab'-Fragmente übergeführt werden. Pepsin spaltet die H-Kette etwas näher zur C-terminalen Region als Papain (22).

Auch mit Trypsin erhält man nach Reduktion zwei univalente 3.5S-Fab-Fragmente und ein Fc-Fragment (57).

Wird IgG mit Cyanogenbromid in verdünnter Säure behandelt, so erhält man wiederum ein Dimer: 5S-(Fab)₂ und nach Reduktion zwei univalente 3.5S-Fab-Fragmente (20).

2.3.1.2 Meraptane.

Durch Sprengung von Disulfidbindungen durch Meraptane gelang es, das Antikörpermolekül in noch kleinere Fragmente aufzuspalten. Mit dieser Methode erhält man Polypeptidketten. Mercaptoäthanol in 6 molarer Harnstofflösung reduziert menschliches IgG, Paraproteine und Kaninchen-IgG. Dabei wird das Molekulargewicht um ein Drittel (ca 50000) vermindert (32, 34). Ähnliche Beobachtungen machte man auch bei der Reduktion von IgG anderer Tierarten (48) und schloß daraus, daß Immunglobulinmoleküle verschiedener Gattungen aus der gleichen Anzahl Polypeptidketten aufgebaut sind. Ferner fand man beim Vergleich

reduzierter und alkylierter Paraproteine und Bence-Jones-Proteine des selben Patienten ähnliche elektrophoretische Muster. Das bewies, daß Bence-Jones-Proteine aus den gleichen Polypeptidketten bestehen, die auch im Paraproteinmolekül enthalten sind (127). Paraproteine zeigen aber noch zusätzliche Bänder.

Ein Nachteil der Dissoziation in 6 molarer Harnstofflösung war die Unlöslichkeit und immunologische Inaktivität der Fragmente. Schwierig war es auch, die durch Reduktion gewonnenen Spaltstücke zu trennen. Mit Ionenaustauschchromatographie erzielte man zwar eine Auftrennung in 2 Peaks, doch die Rückgewinnung der Proteine war gering (34). Stärkegelelektrophorese von so behandeltem, gepoolten Gammaglobulin zeigte ein breites Band von geringer elektrophoretischer Mobilität und hohem Molekulargewicht: die Heavy- oder H-Ketten, und eine schnelle, diffuse Zone: die Light- oder L-Ketten (34). Fleischmann, Pain und Porter (46) fanden eine Methode Gammaglobulin zu reduzieren und zu trennen, so daß die Dissoziationsprodukte löslich und immunologisch aktiv bleiben. Die Rückgewinnung beträgt dabei fast 100%. Menschliches, Pferde- und Kaninchen-Immunglobulin wurden auf diese Weise reduziert und mit Gelfiltration über Sephadex 100 in 2 Teile fraktioniert: in A-Polypeptidketten (Hauptanteil von 75%) und B-Polypeptidketten (Anteil 25%). Die A-Ketten sind identisch mit den H-Ketten von Edelman, die B-Ketten mit den L-Ketten. Weitere Versuche unter ähnlichen Bedingungen bestätigen die 4 Kettenstruktur der IgG-Moleküle und die 5 interchain-Disulfidbindungen (47). Das Molekulargewicht der A-Kette beträgt ca 50000, das der B-Kette ungefähr 20000 (46). Die Summe der Molekulargewichte und der prozentuale Anteil von A- und B-Ketten stimmen mit dem Molekulargewicht des intakten IgG-Moleküls überein. Das ist ein weiterer Beweis für die 4 Kettenstruktur der Antikörper (22). Vergleichende Untersuchungen der Antigen-

eigenschaften zeigten, daß Antiseren gegen Fab- und Fc-Fragment des Papain Digest oder gegen das intakte IgG-Molekül mit den A-Ketten reagierten, die B-Ketten aber nur mit Antiserum gegen das Fab-Fragment. Daraus wurde gefolgert, daß die Leichtketten nur auf dem Fab-Fragment lokalisiert sind, das Fc-Fragment ausschließlich aus Teilen der Schwerketten besteht und das der andere Teil der H-Ketten auf dem Fab-Fragment zu finden ist (46, 111). Ferner wurde nachgewiesen, daß Bence-Jones-Antiseren mit Fab-Fragmenten normaler IgG und Paraproteine reagieren, ferner auch mit normalen IgM. Antiseren gegen IgG, die mit Bence-Jones-Proteinen absorbiert waren, reagierten nur mit dem Fc-Fragment der korrespondierenden Klasse.

2.3.2 Die Struktur der Polypeptidketten.

Erst nach Reduktion der 5 Disulfidbrücken pro Molekül, Dissoziation der Polypeptidketten, ihrer Auftrennung und Isolierung konnten gezielte Sequenzanalysen vorgenommen werden.

2.3.2.1 Leichtkettenstruktur.

Die Ergebnisse quantitativer, immunochemischer Untersuchungen von Bence-Jones-Proteinen, Immunglobulinfraktionen und normalem, gepooltem, menschlichen Serum ließen vermuten, daß Bence-Jones-Proteine Fragmente der Immunglobuline bzw. Paraproteine sind (29). Die beobachtete identische Wanderung in der Elektrophorese von Leichtketten alkylierter und reduzierter Paraproteine und Bence-Jones-Proteine des gleichen Patienten erhärtete diese Vermutung. Es wurde gefolgert, daß Bence-Jones-Proteine aus ähnlichen Polypeptidketten bestehen wie die Leichtketten der norma-

len Ig und Paraproteine (32, 34, 127). Edelman und Gally (33) konnten 1962 dann tatsächlich durch Stärkegelelektrophorese, Ionenaustauschchromatographie, Aminosäurenanalyse und Spektrofluorometrie beweisen, daß Bence-Jones-Proteine freie Leichtketten sind und mit den L-Ketten des Paraproteins vom gleichen Patienten identisch sind. Zu den selben Ergebnissen kamen Putnam (129), Olins und Edelman (111), sowie Schwartz und Edelman (150). Vergleichende Untersuchungen dissoziierter Immunglobuline, Paraproteine und Bence-Jones-Proteine mit der Fingerprintmethode ergaben:

1. Vollständige Übereinstimmung von Bence-Jones-Proteinen und Leichtketten der Paraproteine vom gleichen Patienten (129, 132, 150),
2. sehr unterschiedliche Peptidmuster von Kappa- und Lambda-Bence-Jones-Proteinen (129, 131, 132, 150),
3. teilweise Übereinstimmung der Peptidflecken normaler IgG und Bence-Jones-Proteine (129, 132).

Bei Gegenüberstellung von Aminosäureteilsequenzen fand man beträchtliche Unterschiede zwischen den beiden Antigentypen der Bence-Jones-Proteine (35, 131, 132). Aber auch nur ein Teil der Peptidmuster von Leichtketten der gleichen Antigengruppe verschiedenster Patienten stimmte überein. In diesem Zusammenhang vermutete Putnam (131), daß Leichtketten aus einer konstanten und einer variablen Region bestehen. Hilschmann und Craig (78) bewiesen dann tatsächlich durch Vergleichen von Aminosäureteilsequenzen zweier Kappa-Bence-Jones-Proteine, daß Leichtketten eine konstante Region aufweisen, die mit Ausnahme einer Position unvariabel ist. Weitere detailliertere Sequenzanalysen von Leichtketten Typ-Kappa bestätigten dies: Leichtketten bestehen aus einer, mit Ausnahme einer Position, konstanten, C-terminalen Region und einer variablen, N-terminalen (163). Auch für menschliche Lambda-leichtketten konnte durch Peptidmustervergleiche und

Aminosäuresequenzbestimmungen die Teilbarkeit in eine konstante und eine variable Region bewiesen werden. Beide Hälften bestehen aus beinahe der gleichen Anzahl von Aminosäuren (107, 170). Die erste vollständige Aminosäurenfolge wurde für Leichtketten Typ Lambda veröffentlicht (170). Noch im gleichen Jahr gab Hilschmann (77) die komplette Sequenz für Kappapolyeptidketten bekannt. Die N-terminale Region differiert bei beiden Antigentypen von einer Leichtkette zu anderen, während die C-terminale Region für jeden Kettentyp und jede Spezies eine konstante Aminosäurenfolge aufweist, außer einer Position (135). Da menschliche Leichtketten eines Antigentyps sich nicht nur in der Aminosäuresequenz, sondern auch in der Länge der variablen Region unterscheiden, ergeben sich Schwierigkeiten für eine einheitliche Nummerierung. Als Bezugssystem wählte man für Kappaketten das Bence-Jones-Protein Ag, das sich aus 214 Aminosäuren zusammensetzt, für Lambdaketten das Bence-Jones-Protein Sh, welches aus 213 Aminosäureresten besteht (134, 170). Die Länge der Leichtketten variiert von 213 - 218 Aminosäuren (77). Die variable Region beginnt am sogenannten Aminoterminal (Nr. 1) und endet bei Position 107 bzw. 108, die konstante Region reicht vom Ende der variablen Region bis zum sog. C-terminalen Rest (Nr. 214 bzw. 213). Ein weiteres Merkmal der Leichtketten ist die Bildung von 2 symmetrisch angeordneten Schleifen, die aus etwa 60 Aminosäuren bestehen. Sie entstehen durch 2 intrachain Disulfidbindungen. Eine findet sich in der konstanten, die andere in der variablen Region (108).

2.3.2.1.1 Die variable Region.

Die V- oder N-terminale Region beginnt bei den meisten Lambdaketten mit einer geblockten Aminogruppe. Wahrscheinlich ist es Pyrrolidin-Carboxyl-Säure (= PCA). Bei Kappa-

ketten ist die erste Position meist von einer ungeblockten Asparaginsäure besetzt (130). Bei Typ Kappa können in dieser Region 73 Positionen einer Variation unterworfen sein. Im Sequenzvergleich unterscheiden sich 2 Proteine für Typ Kappa in 16 - 60, für Typ Lambda in 40 - 53 Aminosäuren (130). Einige Abschnitte sind umfangreichen Variationen ausgesetzt, in anderen erfolgt seltener ein Austausch (39). Die oben erwähnten Längendifferenzen der Leichtketten werden durch Aminosäureeinschiebungen hinter Position 27 verursacht. Das gilt für beide Antigentypen (31, 64, 76, 133). Ferner sind 2 der insgesamt 5 Cysteinreste auf Position 23 und 88 bei Kappaleichtketten (ähnlich bei Lambdaketten) lokalisiert (105, 106). Diese Cysteinreste sind durch Disulfidbrücken miteinander verbunden und bilden eine Schleife in dieser Region.

2.3.2.1.2 Die konstante Region.

In der konstanten Region, die charakteristisch für den immunologischen Typ und jede Spezies ist (135), wurde bis heute nur eine genetisch bedingte Abweichung in der Aminosäurenfolge beobachtet (in Position 190 bzw. 191). Bei Kappaketten ist Position 191 entweder mit Leucin im Falle der Eigenschaft Inv (a) besetzt, oder mit Valanin, wenn die Allotypie Inv (b) vorliegt (4). Bei Lambdaketten fand man die sogenannten Oz-Eigenschaften, die Appella und Ein (2) chemisch aufklären konnten. Bei Oz (+) findet man in Position 190 Lysin, bei Eigenschaft Oz (-) Argenin. Die restlichen 3 Cysteinreste sind in dieser Region lokalisiert. Bei Kappaketten sind 2 Cysteinreste in Position 134 und 194 (ähnlich für Lambdaketten) durch eine "intrachain" Disulfidbrücke miteinander verbunden, wodurch eine 60 Aminosäuren umfassende Schleife gebildet wird. Der 3. Cysteinrest übernimmt durch eine "interchain" Disulfidbrücke die Verbindung der Leicht- mit der Schwerket-

te. Bei den Mikroglobulinen sind durch diese Brücke 2 Moleküle miteinander verbunden. Dieses Cystein ist bei den Kappapolypeptidketten die letzte Aminosäure, bei Lambda-ketten die vorletzte (103, 105, 106).

2.3.2.2 Schwerkettenstruktur.

Schwerkettenmoleküle sind wesentlich größer als die Leichtketten: sie sind fast doppelt so lang und bestehen aus ca 450 Aminosäuren (125). Da Sequenzanalysen an so großen Molekülen schwierig durchzuführen sind, mußte eine Methode gefunden werden, das Molekül in kleine Spaltstücke aufzuteilen. Als sehr geeignet erwies sich die Cyanogenbromid-Spaltung. Bei dieser Methode sind die Angriffspunkte der Spaltung die Methioninreste (111). Die H-Ketten kann man analog zu L-Ketten in ein N-terminales (sog. Fd-) und in ein C-terminales (sog. Fc-)Fragment spalten. Die Länge der beiden Fragmente ist annähernd gleich (125). Aus den Ergebnissen der Aminosäuresequenzanalysen der Fc-Region normaler Kaninchen-Schwerketten (75) und aus Peptidmuster Vergleichen der Fc- und Fd-Fragmente, sowie der intakten Schwerkette (49, 153), kam man zu dem Schluß, daß auch die H-Ketten aus einer variablen und einer konstanten Region bestehen. Die konstante Region der Schwerkette ist charakteristisch für Klassenspezifität des Immunglobulins (22). Die variable Region ist ähnlichen Regeln unterworfen, die auch die analoge Region der L-Kette beherrschen (59). Press und Piggot (128) fanden beim Vergleich von Aminosäureteilsequenzen der N-terminalen Region von Schwerketten der gleichen Antigenklasse Myelom-kranker Patienten eine auffallende Homologie der ersten 30 Reste, während die Abschnitte zwischen den Aminosäuren 35 und 100 starken Variationen unterworfen waren. Die ersten 30 Reste bilden eine Region mit beschränkter Variabilität.

Aus der Tatsache, daß die antigenbindende Seite auf die variable Region der Schwarkette lokalisiert ist, erklärt sich die Mannigfaltigkeit der Antikörper. Der Mechanismus der diese Variabilität hervorruft ist noch unbekannt.

3. S P E Z I E L L E R T E I L

3.1 FREMDUNTERSUCHUNGEN.

3.1.1 Die Konzentration der Ig im Normalserum.

Die Ursache für die von einander abweichenden Angaben über die Konzentration der einzelnen Ig-Klassen im Serum gesunder Normalpersonen liegt teils an der Anwendung unterschiedlicher Untersuchungsmethoden, teils an der Auswahl der Probanden.

Seligmann (151) gibt die durchschnittlichen und die extremen Werte der Ig-Konzentrationen Erwachsener im normalen Serum wie folgt an:

IgG 11,7 mg/ml (Extremwerte 6,5-17), IgA 2,2 mg/ml (1-4), IgM 1,2 mg/ml (0,5-2,2), IgD 0,025 mg/ml (0,003-0,14) und IgE 0,0003 mg/ml (0,0001-0,004). Diese Angaben stimmen weitgehend mit den mittleren Normalwerten überein, die Gleichmann und Deicher (58) für 50 weibliche und 50 bzw. 100 männliche Normalpersonen für IgG, IgA und IgM ermittelten.

Rowe und Fahey (146), die als erste die IgD im Serum entdeckten, fanden bei 100 untersuchten Normalseren als mittleren Wert der IgD-Konzentration 0,03 mg/ml, das entspricht einem Anteil von weniger als 1% am Gesamtgehalt der Ig im normalen Serum. Außerdem fiel den Autoren bei diesem Ig eine weit größere Schwankungsbreite der Konzentration als bei den anderen Ig-Klassen auf. Allgemein höher sind die Werte der einzelnen Ig-Konzentrationen für Normalserum, die Franklin (53) angibt.

Der prozentuale Anteil für die oben aufgeführten Durchschnittskonzentrationen der Ig am Gesamtgehalt der Ig des Normalserums beträgt für IgG 77,3 rel.%, für IgA 14,5 rel.

%, für IgM 7,9 rel.%, für IgD 0,2 rel.% und IgE 0,002 rel.%.

3.1.2 Das Frequenzverhältnis der Leichtkettentypen der Ig im Normalserum.

Im Jahr 1963 unternahmen Mannik und Kunkel (96) an mit Jod 131 markierter menschlicher, gepoolter Fraktion II und an ebenso gekennzeichnetem, isolierten IgG mit präzipitierenden Anti-Bence-Jones-Seren den Versuch Kappa- und Lambda-Moleküle quantitativ zu bestimmen. Sie fanden 60% der Ig-Moleküle mit Kappa bzw. 30% mit Lambda-Leichtketten. Die verbleibenden 10% der IgG-Moleküle konnten sie weder dem Kappa- noch dem Lambda-Typ zuordnen.

Mit der spezifischen Immunhemmungstechnik Jod 131 bzw. 125-markierter, normaler Ig und Bence-Jones-Uroproteine ermittelte Fahey (40) das Verhältnis von Kappa- bzw. Lambda-Molekülen:

	<u>Kappa</u>	<u>Lambda</u>
Normalserum	64 %	36 %
IgG	69 %	31 %
IgA	62 %	38 %
IgM	68 %	32 %
B.J.P. im Urin	54 %	46 %

Außerdem konnte der Autor nachweisen, daß die Kappa bzw. Lambda-Leichtketten auf verschiedenen Molekülen der normalen Ig lokalisiert sind. Der Ouchterlony-Diffusionstest zeigte nämlich im Ansatz von normalen IgG gegen Anti-Myelomseren Typ Kappa und Lambda und einem Pool aus Anti-Bence-Jones-Seren beider Leichtkettentypen die Bildung 2er unterschiedlicher Präzipitationslinien, sowie die Kreuzung der Kappa- und Lambda-Präzipitationslinien.

Es überwiegen also eindeutig im Normalserum die Kappa-leichtketten-tragenden Moleküle mit 2 : 1.

3.1.3 Häufigkeit der verschiedenen Paraproteinklassen.

Wie häufig die einzelnen Paraproteinämien auftreten wird unterschiedlich angegeben. Den weitaus größten Anteil nehmen aber entsprechend der relativen Konzentrationen der IgG im Normalserum in praktisch allen Veröffentlichungen die IgG-Paraproteinämien ein. Nur im Beobachtungsgut von Klemm (82) waren IgM-Paraproteinämien am häufigsten vertreten. Ob aber die anderen Paraproteinämien auch entsprechend der Reihenfolge der normalen Serumkonzentrationen ihrer korrespondierenden Ig gefunden werden, differiert von einem Untersucher zum anderen.

Nach Tischendorf (161) beträgt der Anteil der IgG-Paraproteinämien 80 %, der IgA- und der IgM-Paraproteinämien je 10 % und der IgD-Paraproteinämien weniger als 1 %.

Bisher ist nur ein Fall einer IgE-Paraproteinämie veröffentlicht worden (81).

In einer von Wuhrmann und Märki (173) herausgegebenen Zusammenstellung ergibt sich folgende Verteilung:

	<u>IgG</u>	<u>IgA</u>	<u>IgM</u>	<u>B.J.P.</u>	<u>Zahl d.Fälle</u>
Heremans	61%	15%	21%	3%	227
Roulet	52%	14%	33%	1%	162
Hitzig	63%	4%	26%	7%	70
Wuhrmann und Märki	61%	31%	4%	4%	26

Weitere Angaben über die Verteilung der Paraproteinämien bei anderen Autoren sind Tabelle I zu entnehmen. In ihr sind die in der Literatur mitgeteilten Fälle, die uns zur Verfügung standen zusammengestellt und die Häufigkeit der

einzelnen Paraproteinämie-Typen berechnet.

Bei einer Gesamtzahl von 4625 Fällen zeigt sich somit folgende Verteilung:

IgG 54,8 rel.%, IgA 19,3 rel.%, IgM 18 rel.%, IgD 0,8 rel.%, IgE-Paraproteinämien 0,02 rel.%, Bence-Jones-Proteinämien 6,2 rel.%, Heavy-Chain-Disease 0,1 rel.% und Doppel-paraproteinämien 0,3 rel.%.

3.1.4 Frequenzverhältnis der Leichtkettentypen bei Paraproteinämien.

Während die normalen Ig sowohl Kappa- als auch Lambda-Spezifität besitzen (im Verhältnis 2:1), sind Paraproteine monoclonal, d.h. sie haben entweder Kappa- oder Lambda-Polypeptidketten.

Fahey und Solomon (42) untersuchten insgesamt 66 IgG-, 22 IgA- 22 IgM-Paraproteinämien, sowie 30 Bence-Jones-Proteine. Die Leichtkettentypisierung erfolgte entweder immunoelektrophoretisch unter Anwendung von monospezifischen Anti-Bence-Jones-Seren im Vollserum oder mittels Ouchterlony-Diffusionstest an gereinigten Paraproteinen. Die relative Häufigkeit von Leichtkettentyp Kappa bzw. Lambda betrug für IgG- 67 % (44 Fälle) bzw. 33 % (22 Fälle), für IgA- 50 % (11 Fälle) bzw. 50 % (11 Fälle) und für IgM-Paraproteine 82 % (18 Fälle) bzw. 18 % (4 Fälle). Von den 30 untersuchten Bence-Jones-Proteinen waren 53 % (16 Fälle) aus Kappaketten bzw. 47 % (14 Fälle) aus Lambdaketten aufgebaut.

Von Mannik und Kunkel (95) wurde bei IgG-Paraproteinämien ein Verhältnis Kappa:Lambda von 10:5, bei IgA-Paraproteinämien von 5:6 und bei IgM-Paraproteinämien von 7:5 ermittelt. Die Zahlen der Quotienten geben zugleich die absolute Fallzahl wieder.

Von den uns bekannten 33 Fällen einer IgD-Paraproteinämie wurden nur bei 3 Kappaketten nachgewiesen (3, 12, 17, 27, 80, 84, 91, 101, 136, 145, 149, 155, 165, 169, 175). Es errechnet sich für die 33 IgD-Paraproteine ein Überwiegen des Antigentyps Lambda in 93 % der Fälle.

Das einzige bisher bekannt gewordene IgE-Paraprotein besitzt Lambda-Leichtketten (81).

An 500 paraproteinämischen Seren (IgG, IgA, IgD, B.J.P.) unternahmen Laurell und Snigurowicz (91) Leichtkettentypisierungen, um die Frequenz von Kappa und Lambdapolyeptidketten bei den einzelnen Paraproteinämie-Klassen zu bestimmen. Der Leichtkettentyp wurde immunoelektrophoretisch mit spezifischen Antiseren im Vollserum ermittelt. Nur in 5 Fällen mußte zuvor das Paraprotein mit Sephadex isoliert werden. Für die 352 IgG-Paraproteinämien betrug das Verhältnis von Kappa: Lambda 2:1, für die 114 IgA Paraproteine 1:1, und für 30 Bence-Jones-Proteine 1,3:1. Alle 4 IgD-Paraproteine hatten Lambdaketten.

Der Quotient Kappa/Lambda für alle 500 Leichtketten beträgt 1,5.

Aus dem gleichen Institut wurde ebenfalls im Jahre 1967 die Ergebnisse von Leichtkettentypisierungen bei monoclonalen Makroglobulinämien veröffentlicht. Es waren 123 Seren untersucht worden, wobei in 2 Fällen die Seren je 2 M-Komponenten aufwiesen. Beide Male handelte es sich um eine Doppelparaproteinämie vom Typ IgMK + IgML. Die Leichtkettenbestimmung konnte nur bei einer kleineren Anzahl der IgM-Paraproteinämien immunoelektrophoretisch oder mittels Ouchterlony-Diffusionstest am Vollserum erfolgen. In der Mehrzahl der Fälle mußte das Paraprotein erst über Sephadex isoliert werden, da es bei Untersuchung des Vollserums von den schneller diffundierenden, normalen IgG- und IgA-Molekülen überlagert wird. Bei den 125 IgM-Komponenten in 123 paraproteinämischen Seren wurde 100 x Antigentyp Kappa und 25 x Antigentyp Lambda nachgewiesen. Der Anteil der

IgM-Paraproteine mit Kappaketten war so überraschend hoch, daß die Untersucher zur Kontrolle quantitative Bestimmung der Kappa- bzw. Lambda-Determinanten bei polyclonalen IgM gesunder Erwachsener vornahmen. Für die Bestimmung verwandten sie die quantitativen Präzipitationstest nach Heidelberger und Kendall. Sie kamen mit dieser Methode zu gleichen Ergebnissen wie Fahey (40), nämlich einem Verhältnis von Kappa:Lambda wie 2:1 (172).

Tischendorf (161) bestimmte bei 30 Makroglobulinen Typ Waldenström immunoelektrophoretisch die Leichtkettendeterminanten. Beim Auswerten zeigte sich ein Verhältnis von 3:1 zu Gunsten des Kappatyps.

Bei Leichtkettentypisierung von 31 Fällen IgG- und IgA-Paraproteinämien ohne klinischen, zytologischen oder radiologischen Nachweis eines Myeloms wurden 20 x Kappa- und 11 mal Lambda-Ketten nachgewiesen (28).

Dammacco und Waldenström (27) führten Leichtkettenbestimmungen bei benignen, monoclonalen Gammopathien durch und kamen zu folgenden Ergebnissen:

	<u>Kappa</u>	<u>Lambda</u>	<u>Kappa/Lambda</u>
IgG-Parapr.	23	11	2
IgA-Parapr.	2	6	0,3

Sie konnten keinen signifikanten Unterschied in der Kappa/Lambda-Verteilung gegenüber Paraproteinämien, die bei Plasmozytomträgern auftreten, feststellen.

Den Leichtkettentyp des Paraproteins von 85 Myelompatienten ermittelten Bergsagl et al (6) im Zusammenhang mit Untersuchungen über die therapeutische Wirkung von Mephalan. 64,6 % der IgG Paraproteine besaßen Kappa- bzw. 35,4 % Lambdaketten, 47 % bzw. 53 % der IgA und 55 % bzw. 45 % der B.J.Proteine. Nach ihren Untersuchungen sahen sie objektive Besserung bei Patienten die Bence-Jones-Uroproteine Typ Kappa ausschieden; dagegen keine Wirkung bei Bence-Jones-Proteinurie Typ Lambda.

Der Tabelle II ist die Zusammenstellung veröffentlichter Paraproteinämiefälle, für die der Leichtkettentyp bestimmt wurde, zu entnehmen. In dieser Tabelle sind auch die Veröffentlichungen berücksichtigt worden, bei denen Leichtkettentypisierung nicht im Zusammenhang mit der Verteilung der Leichtketten bei den einzelnen Paraproteinämieklassen durchgeführt wurden. IgD- und IgE-Paraproteinämien wurden hier nicht aufgeführt.

3.2 EIGENE UNTERSUCHUNGEN.

3.2.1 Untersuchungsmaterial:

Es wurden 826 Seren untersucht, bei denen entweder in der Papirelektrophorese oder der CAF-Elektrophorese eine homogene Globulinfraktion aufgedeckt worden war. Durch Immunelektrophorese war mit spezifischen Antiseren die Klassenzugehörigkeit der Paraproteine ermittelt worden. Sie wurden in 5 Gruppen eingeteilt:

- | | |
|--------------------------|-----------|
| I. IgG-Paraproteine | (n = 537) |
| II. IgA-Paraproteine | (n = 138) |
| III. IgM-Paraproteine | (n = 111) |
| IV. Bence-Jones-Proteine | (n = 29) |
| V. Doppelparaproteine | (n = 11) |

Für die Leichtkettentypisierung standen uns noch 652 Seren zur Verfügung.

3.2.2 Methoden:

3.2.2.1 Papierelektrophorese:

Die Papierelektrophorese wurde nach dem Verfahren von Grassmann und Hannig (63) durchgeführt. Es wurde Whatman-Nr.-1-Papier im Ausmass von 4 x 30 cm verwendet und Acetat-Veronal-Puffer von 8,6 0,1 mol. Die Trennungszeit betrug 14 Stunden bei 110 Volt Klemmspannung. Die Färbung erfolgte mit Amidoschwarz 10B, die Entfärbung mit Methanol-Eisessig im Verhältnis 9:1. Die transparent gemachten Streifen wurden in einem Extinktionsschreiber II der Firma Zeiss ausgewertet.

3.2.2.2 CAF-Elektrophorese:

Elektrophoresen wurden auf Zellulose-Azetat-Folien in der Boskamp-Kammer als Mikromethode durchgeführt.

Konstante Spannung: 220 Volt.

Laufzeit: 26 Minuten

3.2.2.3 Isolierung der IgM-Paraproteine.

Die Trennung der IgM-Paraproteine wurde an Sephadex 200 fein der Firma Pharmacia Uppsala durchgeführt.

Säulenabmessung: 2,5 x 84 cm

Elutionsmittel: Tris-HCl-Puffer 0,05 mol, pH 6 in 0,1 mol NaCl.

Elutionsgeschwindigkeit: 30 ml/h.

Volumen der Einzelfraktionen: 5 ml.

Serummenge: 1 bis 2 ml.

Die erste durch Gelfiltration 200 gewonnene Fraktion wurde

2 x gegen Aqua dest. ausreichend dialysiert und das letzte Präzipitat in 1 - 2ml physiologischer NaCl gelöst.

3.2.2.4 Immunelektrophorese:

Die Immunelektrophoreseuntersuchungen erfolgten nach der Methode von Grabar und Williams (62) in der Modifikation von Scheidegger (147) als Mikroverfahren.

Als Antiseren wurden verwendet: AHS vom Kaninchen und Pferd, Anti-IgM von der Ziege, Anti-IgG vom Kaninchen, Anti-IgA von der Ziege, Anti-IgM vom Pferd, Anti-Fab vom Kaninchen, Anti-Bence-Jones-GK von der Ziege bzw. vom Kaninchen, Anti-Bence-Jones-Gl vom Pferd bzw. vom Kaninchen.

Die poly- und monovalenten Antiseren stammten von den Behring-Werken (Marburg/Lahn) und von der Firma Hyland/Travenol (München).

3.2.2.5 Ouchterlonydiffusionstest:

Diese Methode wurde in der von Ouchterlony (115) beschriebenen Weise durchgeführt. Der Durchmesser des zentralen Reservoirs betrug 6 mm, der der peripheren 2 mm. Der Abstand der peripheren Mittelpunkte vom zentralen Antiserum-Depot betrug jeweils 7,5 mm.

3.2.3 Ergebnisse:

3.2.3.1 Die Verteilung und Häufigkeit der Paraproteinklassen.

In 826 Fällen konnte elektrophoretisch ein M-Gradient und immunelektrophoretisch eine Paraproteinämie gesichert wer-

den. Es wurde nicht berücksichtigt, ob die Paraproteinämie mit einer Erkrankung des lympho-plasmo-reticulären Zellsystems auftrat oder ob es sich um eine sogenannte "essentielle, benigne monoclonale Gammopathie" im Sinne Waldenströms (167) handelte. 537 x wurde mit spezifischen Antisera eine IgG-, 138 x eine IgA-, 111 x eine IgM-, 29 x eine Bence-Jones- und 11 x eine Doppel-Paraproteinämie diagnostiziert. Dagegen wurde kein Fall einer IgD-, IgE-Paraproteinämie oder einer Heavy-Chain-Disease aufgedeckt. Im Untersuchungsmaterial überwiegen signifikant die IgG-Paraproteinämien mit 65 rel.%, gefolgt von den IgA-Paraproteinämien mit 16,7 rel.% und den IgM-Paraproteinämien mit 13,4 rel.%. Bence-Jones-Proteinämien wurden in 3,6 rel.% der Fälle und Doppelparaproteinämien in 1,3 rel.% ermittelt. Bei der Aufschlüsselung nach dem Geschlecht ergab sich folgende Verteilung:

	weibl. (n)	rel.%	männl. (n)	rel.%	Geschl. unbekannt (n)	rel.%	Summe (n)
IgG	228	43	275	51	34	6	537
IgA	63	46	69	50	6	4	138
IgM	51	46	53	48	7	6	111
B.J.P.	11	38	14	48	4	14	29
Doppel-P.	3	27	8	73	-	-	11
Summe	356	43	419	51	51	6	826

Männliche Patienten waren in unserem Beobachtungsgut etwas häufiger vertreten als weibliche. Auffällig ist das Auftreten von Doppelparaproteinämien in 8 der Fälle bei Männern, während nur bei 3 Frauen 2 M-Komponenten im Serum gefunden wurden. Wegen der geringen Fallzahl (n = 11) kann aber keine endgültige Aussage darüber gemacht werden, daß Doppelparaproteinämien bevorzugt bei männlichen Patienten auftreten.

3.2.3.2 Frequenzverhältnis der Leichtketten bei Paraproteinämien.

Von den 620 Paraproteinen, bei denen der Leichtkettentyp ermittelt werden konnte, stammten 278 von weiblichen und 310 von männlichen Patienten. In 32 Fällen waren bei der Einsendung der paraproteinämischen Seren keine Angaben über das Geschlecht der Patienten gemacht worden.

393 Paraproteine waren Antigentyp Kappa (63 rel.%) und 227 Antigentyp Lambda (37 rel.%) zuzuordnen. Die Doppelparaproteinämien wurden bei diesen Angaben nicht berücksichtigt. Die Ergebnisse der Leichtkettentypisierung für die einzelnen Paraproteinämieklassen sind folgende:

3.2.3.2.1 IgG-Paraproteinämien:

Bei 421 immunoelektrophoretisch gesicherten IgG-Paraproteinämien wurde der Leichtkettentyp mit monospezifischen Anti-Bence-Jones Seren Typ Kappa bzw. Lambda bestimmt. 264 x konnte der Antigentyp Kappa, 157 x der Antigentyp Lambda nachgewiesen werden. Das entspricht einer prozentualen Verteilung von 63 und 37 rel.%. Wesentliche Verschiebungen bezüglich der Geschlechtsverteilung konnten nicht festgestellt werden.

	Kappa (n)	rel.%	Lambda (n)	rel.%	Gesamt- zahl (n)
weiblich	113	59	78	41	191
männlich	135	64	73	36	208
Geschlecht unbekannt	16	72	6	28	22
Summe	264	63	157	37	421

In 10 Fällen waren die Ergebnisse der Immunelektrophorese mit spezifischen Anti-L-Ketten-Seren negativ. Von diesen

zeigte sich im Fall G 31 in der Immunelektrophorese ein Depotfleck. Nach Inkubation des Vollserums mit Cysteamin änderte sich, im Gegensatz zu IgM-Paraproteinen, das Immunelektrophoresebild nicht wesentlich. Die Diagnose einer IgG-Paraproteinämie wurde einmal aus diesem Befund, zum anderen aus dem Untersuchungsergebnis der Ultrazentrifuge gestellt. Nur diskrete Veränderungen wurden im Fall H 184 mit Anti-IgG-Serum sichtbar. Mit Anti-Bence-Jones-Seren kam dagegen keine pathologische Deformierung der entsprechenden Präzipitationslinie zur Darstellung. 2 x, im Fall G 93 und H 249, konnte das Vorhandensein von Leichtketten zwar mit Antiserum gegen das Fab-Fragment nachgewiesen werden, doch mit Anti-L-Ketten-Seren zeigten sich keine pathologischen Präzipitationslinien.

In 9 der Fälle konnte der Leichtkettentyp nur unter Vorbehalt ermittelt werden (7 x Lambda, 2 x Kappa). Diese Fälle wurden aber im Ergebnis berücksichtigt.

3.2.3.2.2 IgA-Paraproteinämien:

Der Leichtkettentyp wurde in 107 Fällen bestimmt, wobei in 2 der Fälle der Nachweis von Lambdaketten nur wahrscheinlich war. 57 x wurden Kappa-, 50 x Lambda-Ketten ermittelt. Das entspricht einer Frequenz von 53 bzw. 47 rel.%. Bei weiblichen Patienten konnte ein leichtes Überwiegen des Antigentyps Kappa mit 58 rel.% festgestellt werden, während bei den männlichen Patienten IgA-Paraproteinämien Typ Kappa fast genauso häufig waren wie vom Typ Lambda.

	Kappa (n)	rel.%	Lambda (n)	rel.%	Gesamtzahl (n)
weiblich	28	58	20	42	48
männlich	26	49	27	51	53
Geschl. unbekannt	3	50	3	50	6
Summe	57	53	50	47	107

Dreimal blieben die Untersuchungen am Vollserum mit monospezifischen Antiseren in der Immunelektrophorese ergebnislos.

3.2.3.2.3 IgM-Paraproteinämien:

Von 81 untersuchten IgM-Paraproteinen konnte für 73 der Leichtkettentyp ermittelt werden. Das Ergebnis berücksichtigt auch hier 5 Fälle, für die der Leichtkettentyp nur mit "großer Wahrscheinlichkeit" diagnostiziert werden konnte (4 x Kappa 1 x Lambda). Bei 3 Fällen zeigte sich in der Immunelektrophorese ein ausgeprägter Depotfleck (H 102, H 243, H 303). Nach Inkubation dieser Seren mit Cysteamin waren die Depotflecken nach erneuter immunelektrophoretischer Untersuchung verschwunden und der Leichtkettentyp bestimmbar. In 6 der Fälle konnte der Leichtkettentyp nicht am Vollserum erfolgen. Das Paraprotein mußte zunächst über Sephadex isoliert werden. Da die gewonnene Fraktion neben den IgM-Paraprotein noch Alpha2-Makroglobulin enthielt, wurde gegen Aqua dest. dialysiert und so das Paraprotein in reiner Form gewonnen. Anschließend wurde der Leichtkettentyp im Ouchterlony-Test ermittelt. 60 x waren die IgM-Paraproteine vom Antigentyp Kappa, 13 x vom Antigentyp Lambda. Das entspricht prozentualen Anteilen von 82 bzw. 18 rel.%. Hinsichtlich der Kappa/Lambda-Verteilung war zwischen männlichen und weiblichen Patienten ein Unterschied festzustellen:

	Kappa rel.% (n)		Lambda rel.% (n)		Gesamtzahl (n)
weiblich	24	77	7	23	31
männlich	32	84	6	16	38
Geschl. unbekannt	4	-	-	-	4
Summe	60	82	13	18	73

In 8 Fällen war die Leichtkettenbestimmung am Vollserum immunoelektrophoretisch nicht möglich. Zur Isolierung reichte aber die noch vorhandene Serummenge nicht aus (weniger als 1 ml).

3.2.3.2.4 Bence-Jones-Proteinämien:

Bei 19 immunoelektrophoretisch untersuchten Bence-Jones-Proteinen wurde in 12 Fällen Kappa-, in den restlichen 7 Fällen Lambda-Leichtketten nachgewiesen. In der Verteilung der Leichtketten Kappa bzw. Lambda konnte bei weiblichen und männlichen Patienten keine Unterschiede festgestellt werden:

	Kappa rel.% (n)		Lambda rel.% (n)		Gesamtzahl (n)
weiblich	5	63	3	37	8
männlich	7	64	4	36	11
Summe	12	63,5	7	36,5	19

3.2.3.2.5 Doppelparaproteinämien:

In 11 Fällen wurde eine Doppelparaproteinämie festgestellt. Immunelektrophoretisch bestand zweimal eine IgG-K- + IgA-K-Paraproteinämie, einmal eine IgG-K- + IgA-L-Paraproteinämie, einmal eine IgG-L- + IgA-L-Paraproteinämie, einmal eine

IgA-K- + IgA-L-Paraproteinämie, einmal eine IgA-K- + IgM-K-Paraproteinämie, dreimal eine IgG-K- + IgG-K-Paraproteinämie, einmal eine IgG-L- + IgG-L-Paraproteinämie. In den vier letztgenannten Fällen zeigten die beiden M-Komponenten des Serums sowohl in der Immun- als auch in der Elektrophorese ein einwandfrei unterschiedliches Verhalten. Eine Doppelmikroglobulinämie vom Lambdakettentyp wurde in einem Fall nachgewiesen. Hier fanden sich in der Elektrophorese eindeutig zwei schmalbasige Gradienten. Unter den 11 Patienten mit einer Doppelparaproteinämie befanden sich 3 Frauen. Bei dieser seltenen Eiweißveränderung besaßen 14 der Paraproteine Kappa- und 8 Lambdaleichtketten.

3.3 DISKUSSION:

Bei allen in dieser Arbeit mitgeteilten eigenen Fällen war die Diagnose einer Paraproteinämie durch das Vorhandensein von homogenen Sonderfraktionen im Elektrophorese-Diagramm und dem Nachweis einer pathologischen Deformierung der entsprechenden Präzipitationslinie in der Immunelektrophorese gesichert. Nicht berücksichtigt wurde die Art der Erkrankung, bei der die M-Komponente im Serum nachgewiesen worden war.

Unter den 826 Paraproteinämien waren 537 IgG-, 138 IgA-, 111 IgM-, 29 Bence-Jones- und 11 Doppel-Paraproteinämien. Das entspricht einer Verteilung von 65 rel.%, 16,7 rel.%, 13,4 rel.%, 3,6 rel.% und 1,3 rel.%. Die Häufigkeit der einzelnen Paraproteinämieklassen ist damit in Übereinstimmung mit anderen Veröffentlichungen (26, 74, 80, 113, 143, siehe Tabelle I) annähernd äquivalent dem relativen Verhältnis der IgG, IgA und IgM im normalen Serum. Einige Autoren sahen ein Überwiegen der IgM- gegenüber den IgA-

Paraproteinämien (82, 109, 144). Das kann Ausdruck eines regional bzw. rassisch bedingten vermehrten Auftretens von IgM-Paraproteinämien sein, oder einer Selektion des Krankengutes bzw. einer zu geringen Patientenzahl. Für ein Überwiegen der IgA- gegenüber den IgM-Paraproteinämien spricht das Ergebnis der Zusammenstellung der in der Literatur mitgeteilten und eigenen Fälle von Paraproteinämien wie aus Tabelle III ersichtlich ist. Danach sind unter 5451 Paraproteinämien 1031 der Klasse A (19 %) und 943 der Klasse M (17 %) zuzuordnen. IgG-Paraproteinämien stellen immer, wenn nicht aus bestimmten Gründen eine spezielle Auswahl getroffen wurde, den weitaus größten Anteil (siehe Tabelle I und III). Bei einer Zahl von 5451 Paraproteinämien (zusammengestellt aus der Literatur und eigener Fälle) beträgt der Anteil der IgG-Paraproteinämien 56,3 %.

In 620 Fällen bei denen die Diagnose einer Paraproteinämie gesichert war, haben wir immunologisch den Leichtkettentyp bestimmt. Alle Paraproteine reagierten nur mit einem der beiden monospezifischen Antiseren gegen Bence-Jones-Protein Kappa bzw. Lambda, was für ihre Monoklonalität spricht (161).

Bei allen Paraproteinen war die Präzipitation mit Bence-Jones-Antiseren gegen Lambda, trotz Anwendung großer Antiserummengen und verschiedener Serumverdünnungen, wesentlich schwächer als mit L-Ketten-Antiseren gegen Kappa. Unterschiede hinsichtlich verschiedener Chargen oder Seren mehrerer Firmen konnten nicht festgestellt werden. Die Ursache liegt sicher an einem zu niedrigem Antikörpertiter der Anti-Bence-Jones-Seren gegen Typ Lambda.

In der Regel ließ sich bei IgG- und IgA-Paraproteinen, im Gegensatz zu den IgM-Paraproteinen der Leichtkettentyp ohne Schwierigkeit bestimmen. Bei einem Teil mußten die zu untersuchenden Seren im Verhältnis 1:2 bis 1:20 verdünnt werden. Erst so wurde die richtige Antigen-Antikörper-Kon-

zentration erreicht, um eindeutige Präzipitationslinien zu erhalten. Bei Verwendung von Agarose statt Reinagar waren im Gegensatz zu Laurell und Snigurowicz (91) keine besseren Ergebnisse zu erzielen. Größere Schwierigkeiten bereitete die L-Kettenbestimmung von IgM-Paraproteinen worauf auch Tischendorf (161) und Wollheim (172) hingewiesen haben. Da die IgM zu etwa $2/3$ Euglobuline sind und häufig als "Depotfleck" auf der kathodischen Seite des Antigenreservoir ausfallen, wird eine Erhöhung der Ionenstärke ($\mu = 0,075$) des Puffermilieus vorgeschlagen, um den Makroglobulinen eine elektrophoretische Wanderung zu ermöglichen (161). Wir haben in diesen Fällen das paraproteinämische Serum mit Cysteamin inkubiert. Nachfolgende immunoelektrophoretische Untersuchung zeigte meist das Verschwinden des Depotflecks und das Auftreten einer für IgM-Paraprotein typischen Präzipitationslinie. Wollheim und Snigurowicz (172) konnten in den meisten Fällen den L-Kettentyp des IgM-Paraprotein erst nach Isolierung des Proteins über Sephadex ermitteln, während Tischendorf bei allen 30 untersuchten IgM-Paraproteinen den Antigentyp immunoelektrophoretisch mit "potenten" Anti-Bence-Jones-Seren am Vollserum bestimmen konnte (161). Wir haben nur in 6 Fällen das IgM-Paraprotein vor der Leichtkettencharakterisierung isolieren müssen.

Die immunologische Leichtkettenbestimmung bei 421 IgG-Paraproteinen zeigt ein deutliches Überwiegen von Typ Kappa. Das Verhältnis von Kappa:Lambda beträgt annähernd 2:1 und stimmt mit der von Fahey (42) bzw. Laurell und Snigurowicz (91) ermittelten Quote überein. Dieses Verhältnis bleibt auch für die Summe ($n = 1137$) aus in der Literatur veröffentlichter ($n = 716$) und selbst typisierter IgG-Paraproteine ($n = 421$) erhalten (Tabelle IV). Auch im Normalserum wurde die gleiche Leichtkettenverteilung für IgG wie auch für die anderen Ig gefunden (40, 96).

Bei IgA-Paraproteinämien unseres Krankengutes ist ein leichtes Überwiegen Typ Kappa (53 rel.%) gegenüber Typ Lambda (47 rel.%) festzustellen. Das Verhältnis entspricht nahezu 1:1 und bestätigt die Ergebnisse anderer Untersucher (42, 91). Wertet man die Resultate der aus der Literatur zusammengestellten und die eigenen Befunde aus (Tabelle IV), so erhält man einen Quotienten für Kappa/Lambda von 0,9. Hieraus ist im Gegensatz zu unseren Befunden ein leichtes Überwiegen der Lambdaketten bei IgA-Paraproteinämien zu erkennen. Die Kappa/Lambda-Verteilung bei IgA-Paraproteinämien entspricht nicht der der normalen IgA.

Überraschend sind die Ergebnisse bei IgM-Paraproteinämien. Schon Fahey (42) ermittelte, allerdings nur für 22 Fälle, 18 x Antigentyp Kappa und 4 x Antigentyp Lambda. Beim Überblicken einer wesentlich höheren Anzahl, nämlich 125 IgM-Paraproteinen, fanden Wollheim und Snigurowicz (172) auch in 80 % der Fälle Kappaketten. Wir fanden ebenfalls 4 x häufiger bei IgM-Paraproteinen Antigentyp Kappa. Dagegen betrug das Verhältnis Kappa:Lambda bei 11 IgM-Paraproteinämien, das Mannik und Kunkel ermittelten nahezu 1:1 (95). Interessant ist es, daß alle IgM-Paraproteine, die im Zusammenhang mit chronischem Kältehämagglutininsyndrom gefunden wurden, Kappaketten besaßen (71).

In der Zusammenstellung von IgM-Paraproteinämien, bei denen Leichtkettentypisierung nicht immer nur hinsichtlich der Verteilung von Kappa und Lambda durchgeführt wurde, (siehe Tabelle II) beträgt der Quotient Kappa/Lambda 4:1, d.h. von 233 IgM-Paraproteinen waren 189 Typ Kappa (81 rel.%). Auch hier entspricht die Kappa/Lambda-Verteilung nicht der der normalen Ig.

Entsprechend den IgG-Paraproteinämien war bei unseren aufgedeckten Fällen mit Doppelparaproteinämien der Kappatyp auch fast 2 x häufiger vertreten als Typ Lambda. Ebenso verhielt sich die Leichtkettenverteilung bei Bence-Jones-

Proteinämien und weicht damit deutlich von den in der Literatur mitgeteilten Befunden ab (51 bzw. 49 rel.%, siehe Tabelle IV). Diese Differenz ist sicher aus unserer zu geringen Fallzahl ($n = 19$) zu erklären und das Überwiegen der Kappaketten rein zufällig.

In unseren Beobachtungen bestehen wahrscheinlich auch keine Unterschiede der Leichtkettenverteilung bei Paraproteinämien hinsichtlich des Geschlechts und das wechselnde Überwiegen von Kappa oder Lambda bei den einzelnen Paraproteintypen ist zufällig, abhängig von der Anzahl der ausgewerteten Fälle. In der uns zur Verfügung stehenden Literatur wurde keine Unterscheidung zwischen weiblichen und männlichen Patienten mit Paraproteinämien bei Untersuchung des Leichtkettentyps gemacht.

Es wurden Fragen aufgeworfen, ob irgendwelche Zusammenhänge zwischen dem Leichtkettentyp des Paraproteins, dem klinischen Bild der Verlaufsform, der Therapieansprechbarkeit oder den physikalisch-chemischen Eigenschaften bestehen.

Bei "idiopathischen" Paraproteinämien, d.h. bei Erkrankungen ohne Nachweis eines Myeloms, fand Hammack bei allen 20 beobachteten Fällen ausschließlich Kappaketten (69). Dagegen konnten weder Dammacco und Waldenström (27), noch Danon et al. (28) bei einer wesentlich größeren Anzahl benigner Gammopathien eine Bevorzugung eines Leichtkettentyps feststellen. Die Kappa/Lambda/Rate war nicht signifikant verschieden von der Rate bei Myelom. Bei Plasmazellerkrankungen mit Amyloidose sahen Pick und Osserman (122) ein auffälliges Überwiegen der Lambdaketten der IgG-, IgA-, IgM- und Bence-Jones-Proteine.

Märki und Mitarbeiter (94) wiesen in 24 Fällen mit Plasmozytom und sog. "rudimentären Paraproteinämien monoklonales IgG nach und bestimmten den Leichtkettentyp des Paraproteins. Zwischen dem Verhalten der Paraproteine bei Myelom und Gammopathien waren keine Unterschiede festzustellen.

Bisher konnte auch die Mehrzahl der Untersucher, außer für IgM-Paraproteine, die zusammen mit chronischen Hämagglutinsyndrom auftreten und für die nur Kappaketten nachgewiesen wurden (54, 71), keine Beziehungen zwischen dem Leichtkettentyp des Paraproteins und einer malignen (plasmo-lympho-reticulären) bzw. benignen (im Sinne Waldenströms) Erkrankung feststellen.

Nachgewiesen wurde ferner, daß keine Korrelation zwischen dem Leichtkettentyp und der elektrophoretischen Beweglichkeit (42, 91, 172), dem Hexosegehalt und dem Verhalten des Paraproteins in der Ultrazentrifuge bestehen (42).

Auch eine Abhängigkeit zwischen dem Leichtkettentyp und der therapeutischen Wirkung von Medikamenten (z.B. Mephalan) dürfte mit größter Wahrscheinlichkeit nicht bestehen. Zwar sahen Bergsagl et al. (6) eine objektive Besserung nach Mephalantherapie bei Patienten mit Bence-Jones-Proteinurie Typ Kappa und keine Ansprechbarkeit, wenn Lambda-Bence-Jones-Proteine im Urin zu finden waren. Von anderen Untersuchern wurde ein Zusammenhang zwischen therapeutischer Wirkung und Leichtkettentyp bestritten, da sie keine Unterschiede in der Ansprechbarkeit nach Mephalan bei Paraproteinämien für Antigentyp Kappa bzw. Lambda fanden (19, 90, 92, 112). Auch bei den hier mitgeteilten Fällen waren keine Unterschiede auf zytostatische Therapie festgestellt worden (43).

Entscheidend zur Beantwortung der Frage, ob die maligne Transformation von Zellkloni, die Kappa- bzw. Lambda-Polypeptidketten bilden, zufällig, im Verhältnis ihres normalen Vorkommens erfolgt oder ob andere Faktoren eine Rolle spielen, muß festgestellt werden, ob statistisch signifikante Unterschiede in Bezug auf die Verteilung der Antigen-determinanten bei den Paraproteinklassen und den normalen Ig bestehen.

In Tabelle V ist die Verteilung der Verhältnismwahrscheinlichkeit im Chi-Quadrat-Test unter den einzelnen Parapro-

teinämien aufgezeigt.

Für die These, daß die IgGkG bzw. IgG1 bildenden Zellen im Verhältnis ihres normalen Vorkommens malignen entarten, spricht:

1. daß die Verteilung von Kappa und Lambda-Determinanten der normalen IgG (40, 96) und der IgG-Paraproteine, wenn für eine repräsentative Anzahl Leichtkettentypisierungen durchgeführt würden (6, 27, 42, 91, 171), und eigene Untersuchungen siehe Tabelle IV) ebenso wie in den Milzzellen (7) 2:1 beträgt,
2. daß die elektrophoretischen Verteilungsmuster der normalen IgG und der IgG-Paraproteinämien identisch sind (91),
3. daß die elektrophoretischen Verteilungsmuster für die beiden Leichtkettentypen (Kappa bzw. Lambda) bei IgG bzw. IgG-Paraproteinen identisch sind (91).

Zwischen der L-Kettenverteilung bei IgG- und IgA-Paraproteinämien besteht nach unseren Untersuchungen, wie auch den Untersuchungen Faheys, kein statistisch signifikanter Unterschied, obwohl die Verteilung bei IgG-Paraproteinämien 2:1 und bei IgA-Paraproteinämien 1:1 beträgt.

Für unseres Untersuchungsmaterial erklärt sich das:

1. durch ein leichtes Überwiegen der Kappaketten bei IgA-Paraproteinämien,
2. durch die Verschiebung des Quotienten Kappa/Lambda zu Gunsten von Lambda bei IgG-Paraproteinämien in Vergleich zu anderen Untersuchungsergebnissen (91).

Daß die diesbezüglichen Ergebnisse von Fahey und Solomon statistisch nicht signifikant sind, liegt an der zu geringen Zahl der ausgewerteten Fälle. Statistisch als gesichert darf man die Unterschiede bezüglich der IgG- gegenüber der IgA-Paraproteinen für die Ergebnisse von Laurell

(91) und die Summe, der aus der Literatur und eigenen Fälle zusammengestellten Paraproteinämien ansehen. Für diese repräsentative Anzahl ist das Verhältnis 1:1 gesichert und weicht damit von dem der normalen IgA (2:1) ab.

Setzt man voraus, daß die Synthesefähigkeit für IgAK und IgAL gleich groß ist, müßte die IgAL-bildenden Zellen häufiger maligne entarten als die IgAK-bildenden Zellen.

Ebenso könnte es sich bei IgD-Paraproteinämien verhalten, bei denen noch häufiger Lambdaketten (10 x) auftreten.

Bei einer genügend großen Anzahl ausgewerteter Fälle (siehe Tabelle V) sind Unterschiede der Leichtkettenverteilung der IgM- zu den anderen Paraproteinämiearten statistisch erwiesen. Auch bei unseren Untersuchungen waren die Unterschiede statistisch signifikant (Tabelle V). Dagegen konnte Fahey (42) auch zwischen IgG und IgM-Paraproteinämien keine signifikanten Abweichungen feststellen, obwohl in seinem Beobachtungsgut Kappaketten 4 x häufiger vertreten waren als Lambdaketten. Diese abweichenden Befunde sind aus der zu geringen Zahl der berücksichtigten Fälle zu erklären.

Das 4 x häufigere Vorhandensein von Kappaketten bei monoklonalen IgM zu erklären, muß zur Zeit hypothetisch bleiben. Nach Wollheim könnte man es sich wie folgt vorstellen (172): Nimmt man für die Kappamoleküle einen größeren Katabolismus bei gleicher Synthesefähigkeit der Kappa und Lambda bildenden Zellen an, so müßte die relative Serumkonzentration für IgM-K niedriger sein, als das der relativen Anzahl der Kappa bildenden Zellen entspricht. Um im normalen Serum die bekannte Kappa/Lambda-Rate von 2:1 für IgM zu erreichen, müßten mehr als 2 x Kappa-bildende Zellen vorhanden sein. Würde nun analog zu den IgG-Paraproteinämien, die beiden Zelltypen im Verhältnis ihres natürlichen Vorkommens maligne entarten, so müßte daraus ein stärkeres Überwiegen der Kappa-IgM-Paraproteinämien resultieren.

Da man ein bevorzugtes Bilden von IgM-Lambda-Molekülen während des fötalen Lebens annimmt (38) wird ferner diskutiert (172), daß das Verhältnis von Kappa zu Lambda-IgM-Molekülen mit dem Alter wächst. Paraproteine treten bevorzugt im höheren Lebensalter auf. Man müßte infolgedessen häufiger Kappa-IgM-Paraproteinämien finden. Auch für monoklonale Makroglobulinämien könnte man andererseits den gleichen Mechanismus des malignen Entartens von Leichtketten produzierenden Zellen annehmen, der auch für IgA- bzw. IgD-Paraproteinämien vorgeschlagen wurde, d.h. selektive Bevorzugung der Kappa bildenden Zellen.

Die Ursache für das Zustandekommen der unterschiedlichen Leichtkettenverteilung bei den einzelnen Paraproteinämien (2:1, 1:1, 4:1, 1:10) kann heute, wie die Ausführungen zeigen, noch nicht befriedigend geklärt werden.

3.4 ZUSAMMENFASSUNG

Unter 826 untersuchten Paraproteinämien entsprach die Häufigkeit der einzelnen Paraproteinklassen dem relativen Verhältnis der Serumkonzentration der normalen Ig.

Mit monospezifischen Antiseren gegen Bence-Jones-Proteine wurden durch Immunelektrophorese oder Ouchterlonydiffusionstechnik bei 620 Paraproteinen der Klasse IgG, IgA, IgM, bei Bence-Jones- und Doppel-Paraproteinämien der Leichtkettentyp bestimmt. Für IgG-Paraproteinämien wurde ein Kappa/Lambda-Verhältnis von 2:1, für IgA-Paraproteinämien von 1:1, für monoklonale Makroglobuline von 4:1 und für Bence-Jones-Proteine von 2:1 gefunden. Bei Doppelparaproteinämien zeigte sich ein Überwiegen der Kappaleichtketten. Statistisch gesichert sind die Unterschiede der Leichtkettenverteilung zwischen IgG-/IgM- und IgA-/IgM-Paraproteinämien.

Die Auswertung der Summe aus Literatur zusammengestellter und eigener Fälle von Paraproteinämien zeigt statistisch signifikante Unterschiede der Leichtkettenverteilung zwischen den IgG-/IgA-, IgG-/IgM-, IgA-/IgM- und IgM-/Bence-Jones-Proteinämien.

Es werden mögliche Ursachen für das Zustandekommen der unterschiedlichen Leichtkettenverteilung bei den einzelnen Paraproteinämien diskutiert.

Wechselbeziehungen zwischen dem Leichtkettentyp und dem klinischen Bild, der Verlaufsform, der Therapieansprechbarkeit und physiochemischer Eigenschaften wurden nicht festgestellt.

Tabelle I

Autor	Jahr	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE	B.J.P.	H.-Ch.	D.-P.	unklar	Summe
(74)	1961	318	109	95			18			4	544
(166)	1961	1	7								8
(144)	1962	109	34	62			1				206
(26)	1963	212	128	91			32				463
(113)	1963	225	66	44			59	3		3	400
(42)	1963	66	22	22			14				124
(67)	1963	5	2	1			1				9
(148)	1964	83	15				5				103
(56)	1964							1			1
(139,140)	1964	139	47	46			18				250
(145)	1964				1						1
(93)	1965	16	5	1							22
(109)	1965	165	78	116			26		5		390
(14)	1965	12	1	3			1			1	18
(69)	1965	19	1								20

Tabelle I Fortsetzung 1

Autor	Jahr	I _{EG}	I _{GA}	I _{GM}	I _{GD}	I _{GE}	B.J.P.	H.-Ch.	D.-P.	unklar	Summe
(71)	1965			37							37
(83)	1966	54	17	62			4				137
(157)	1966	8	3	6			1				18
(80)	1966	102	49	1	6		43			3	204
(17,165)	1966				3						3
(91)	1967	352	114		4		30				500
(172)	1967		125								125
(137)	1967	198	57	61			16		1	6	339
(136,149, 169,175)	1967				5						5
(84,155)	1967				3						3
(81)	1967					1					1
(98)	1967	54	13	15	1		7				90
(19)	1967	7	9								16
(28)	1967	82	19						3		104
(8)	1968	8	2		1						11

Tabelle I Fortsetzung 2

Autor	Jahr	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE	B.J.P.	H.-Ch.	D.-P.	unklar	Summe
(143)	1968	47	22	4					2		65
(27)	1968	58	23	10	2		5				98
(37)	1968							1			1
(152)	1968							1			1
(101)	1968				1						1
(12)	1969				1						1
(168)	1969	85	37	20						3	145
(100)	1969	21	5	3					1		30
(21)	1969	44	2	3			4			2	55
(171)	1969	54	6	4					3		67
(3)	1968				8						8
Summe:		2534	893	832	36	1	286	6	15	22	4625
Häufigkeit in %		54,8	19,3	18	0,8	0,02	6,2	0,1	0,3	0,5	100

Häufigkeit der einzelnen Paraproteinemien zusammengestellt aus Literaturangaben

Tabelle II

Jahr	Zahl der Fälle	IGG			IGA			IGM			B-J-P.		
		K	L	rel. % K L	K	L	rel. % K L	K	L	rel. % K L	K	L	rel. % K L
Franklin, E.C. (51)	12				6	6	50 50						
Mannik, M. (95)	39	10	5	66 34	5	6	45 55	7	6	54 46			
Fahey, J.L. (42)	140	44	22	67 33	11	11	50 50	18	4	82 18	16	14	53 47
Migita, Sh. (102)	21	7	3	70 30	4	-		2	-		1	4	20 80
Cohen, S. (23)	11	5	3	62 38	-	1		1	1	50 50			
Bergsagl, D. (6)	85	31	17	65 35	8	9	47 53				11	9	55 45
Hammack, W. (69)	20	19	-		1	-							
Harboe, M. (71)	37							37	-				
Harboe, M. (70)	12							11	1	92 8			

Tabelle III

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE	B.J.P.	H.-Ch.	D.-P.	unklar	Summe
Literaturfälle	2534	893	832	36	1	286	6	15	22	4625
Häufigkeit in %:	54,8	19,3	18	0,8	0,02	6,2	0,1	0,3	0,5	100
Eigene Fälle	537	138	111	-	-	29	-	11	-	826
Häufigkeit in %:	65	16,7	13,4	-	-	3,6	-	1,3	-	100
Summe:	3071	1031	943	36	1	315	6	26	22	5451
Häufigkeit in %:	56,3	18,9	17,3	0,7	0,02	5,8	0,1	0,5	0,4	100

Häufigkeit der einzelnen Paraproteinemien zusammengestellt aus Literaturangaben
und eigenen Fällen.

Tabelle IV

	Literaturfälle		Eigene Fälle		Summe	
	K	L	K	L	K	L
Zahl d.Fälle	477	239	264	157	741	396
IgG rel. %	67	33	63	37	65	35
Zahl d.Fälle	108	122	57	50	165	172
IgA rel. %	47	53	53	47	49	51
Zahl d.Fälle	189	44	60	13	249	57
IgM rel. %	81	19	82	18	81	19
Zahl d.Fälle	55	52	12	7	67	59
B.J.P. rel. %	51	49	63	37	53	47
Zahl d.Fälle	3	30	-	-	3	30
IgD rel. %	9	91	-	-	9	91
Zahl d.Fälle	-	1	-	-	-	1
IgE						

Die Leichtkettenverteilung der einzelnen Paraproteinämien zusammengestellt aus Literaturangaben und eigenen Fällen.

Tabelle V

Literatur	IgG/IgA		IgG/IgM		IgG/B.J.P.		IgA/IgM		IgA/B.J.P.		IgM/B.J.P.	
	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	p
Fahey, J.L. (42)	1,309	< 0,2	1,165	< 0,2	1,074	< 0,3	3,642	< 0,10	0,002	< 0,975	3,379	< 0,10
Laurell, G.B. (91)	11,686	< 0,001	9,972	< 0,005	0,57	< 0,5	27,704	< 0,0005	0,492	< 0,5	5,913	< 0,02
Wollheim, F. (172)												
Dammacco, (27)	10,65	< 0,005	0,093	< 0,80	0,008	< 0,95	3,94	< 0,05	0,890	< 0,40	0,038	< 0,90
Summe d. Lit. Fäll.	28,523	< 0,0005	17,651	< 0,0005	9,432	< 0,005	58,725	< 0,0005	0,758	< 0,50	30,501	< 0,0005
Eigene Fälle	3,188	< 0,10	9,618	< 0,005	0,041	< 0,90	14,708	< 0,0005	0,3	< 0,60	2,189	< 0,20
Summe aus Lit. + eigene Fälle	28,839	< 0,0005	29,382	< 0,0005	7,084	< 0,01	73,471	< 0,0005	0,651	< 0,5	36,130	< 0,0005

Tabelle V: Verteilung der Verhältnisswahrscheinlichkeit im Chi-Quadratstest unter den einzelnen Proteinämie-Klassen. (Freiheitsgrad 1, p = Wahrscheinlichkeit, p = statistisch signifikant)

4. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. APITZ, K.: Die Paraproteinosen.
(Über die Störung des Eiweißstoff-
wechsels bei Plasmozytom).
Virchows Arch.path.Anat. 306,631
(1940)
2. APPELLA, E. and D. EIN:
Two types of lambda polypeptide
chains in human immunoglobulins based
on a amino acid substitution at posi-
tion 190.
Proc.Nat.Acad.Sc.57,1449 (1967)
3. BACHMANN, R.: Serum gamma-D-globulin in conditions
with pathological proteins (M-compo-
nents) and in mononucleosis.
Nobel Symp. 3,605 (1967)
4. BAGLIONI, C., L. ALESCIO ZANTA, D. CIOLI and A. CARBO-
NARA: Allelic antigenic factor Inv(a) of
the light chains of human immuno-
globulins: chemical basis.
Science, 152, 1517 (1966)
5. BALLIEUX, R.E., G.M.BERNIER, K.TAMINAGO and F.W.PUTNAM:
Gamma globulin antigenic types
defined by heavy-chain determinants.
Science 145, 168 (1964)
6. BERGSAGL, D.E., PH.J. MIGLIORE and K.M. GRIFFITH:
Myeloma proteins and the clinical
response to Mephalan therapie.
Science 148, 376 (1965)
- BERNIER, G.M. and J.J. CEBRA:
Frequency distribution of alpha,
gamma, kappa and lambda polypeptide
chains in human lymphoid tissues.
J.Immunol. 95, 246 (1965)

8. BILSKI-PASQUIER, G., R. ZITTOUN et J.C. HOMBERG:
Paraproteinemies IgG et IgA non myelomateuses.
Extrait: La Semaine des Hôpitaux 44,
145 (1968)
9. BIOZZI, G., R.A. BINAGHI, C. STIFFEL and D. MOUTON:
Production of different classes of
immunoglobulins by individual cells
in guinea-pig.
Immunology 16, 349 (1969)
10. BOYD, W.C.:
Fundamentals of immunology.
4th Ed. Chap 2, 43 Interscience Pub.
New York (1966)
11. BRAMBELL, F.W.R., W.A. HEMMINGS, C.L. OAKLEY and R.R.
PORTER:
The relative transmission of the
fractions of papain hydrolyzed homo-
logous gamma-globulin from uterine
cavity to the foetal circulation in
the rabbit.
Proc. Roy. Soc. (London) 151B, 478
(1960)
12. BRAUN, H.J. und F.W. ALY:
Die Diagnostik des D-Plasmozytoms.
Dtsch. Med. Wschr. 94, 114 (1969)
13. BRAUNSTEINER, H., F. CABL, B. LEDERER, D. FASTNER, A. PROBST
und P. RHOMBERG:
Thymustumor mit extremer Lymphopenie
und Atrophie des lymphatischen Gewe-
bes bei normaler Plasmazellzahl und
mit Auftreten einer monoklonalen
IgM(Lambda)-Vermehrung.
Schweiz. Med. Wschr. 98, 1188 (1968)
14. BRITTINGER, G. und E. KÖNIG:
Zur Klinik der Paraproteinämien.
Schweiz. Med. Wschr. 46, 1584 (1965)
15. BULLETIN WORLD HEALTH ORG. 30, 447 (1964)

16. BURTIN, P. et D. BUFFE:
L'origine cellulaire des immuno-
globulines.
Immunopathology 4, 273 (1965)
17. BURTIN, P., B. GUILBERT et D. BUFFE:
Deux cas de myélome a immunoglobuline
D.
Clin.Chim.Acta 13, 675 (1966)
18. BURTIN, P., L. HARTMANN, R.FAUVERT et P. GRABAR:
Études sur les protéines du myélome.
I. Étude critique des techniques
d'identification de la protéine de
Bence-Jones et de valeur diagnostique.
Rev.franc.Etud.clin.biol. 1, 17 (1956)
19. CAGGIANO, V., J. CUTTNER and A. SOLOMON:
Myeloma proteins, Bence-Jones pro-
teins and normal immunoglobulins
multiple myeloma.
Blood 30, 265 (1967)
20. CAHNMANN, H.J., R. ARNON and M. SELA:
Isolation a characterization of
active fragments obtained by cleav-
age of immunoglobulin G with cyano-
gen bromide.
J.Biol.Chem. 241, 3247 (1966)
21. CAWLEY, L.P.:
Electrophoresis and immunelectropho-
resis.
Little, Brown and Co. Boston 1969
22. COHEN, S. and C. MILSTEIN:
Strukture and biological properties
of immunoglobulins.
Advances in Immunology 7, 1 (1967)
23. COHEN, S. and R.R. PORTER:
Heterogeneity of the peptide chains
of gamma-globulin.
Biochem. J. 90, 278 (1964)

24. COHEN, S. and R.R. PORTER:
Structure and biological activity
of immunoglobulins.
Immunology 4, 287 (1964)
25. COSTEA, N., V.J. YAKULIS, J.A. LIBNOEL, C.G. PILZ and
P. HELLER:
Two myeloma globulins (IgG and IgA)
in one subject and one cell line.
Am.J.med. 42, 630 (1967)
26. CREYSSEL, R., J. GROULADE, J.M. FINE and H. BETUEL:
Etude immunochimique de 463 serums
contenants une paraprotéine.
In: Protides of the biological
fluids. 11th colloquium Bruges 1963
pp 97, H. Peeters Ed. Elsevier Pub-
lishing Amsterdam/New York 1964
27. DAMMACCO, F. and J. WALDENSTRÖM:
Bence-Jones proteinuria in benign
monoclonal gammopathies.
Acta med. Scand. 184, 403 (1968)
28. DANON, F., J.P. CLAUVEL and M. SELIGMANN:
Les paraprotéines de type IgG et IgA
en dehors de la maladie de Kahler.
Rev.franc.Etude clin.Biol. 12, 681
(1967)
29. DEUTSCH, H.F., C.H. KRATOCHVIL and A.E. REIF:
Immunochemical relation of Bence-
Jones proteins to normal serum pro-
tein.
J.Biol.Chem. 216, 103 (1955)
30. DITTMAR, K., J. KOCHMA, D.ZUCKER-FRANKLIN and L.R. WAS-
SERMANN:
Coexistence of polycythémie vera a
bioclonal gammopathy (IgGK and IgAL)
with two Bence-Jones proteins (BJK
and BJL).
Blood 31, 81 (1968)

31. DREYER, W.J., W.R. GRAY and L. HOOD:
The genetic molecular and cellular
basis of antibody formation: some
facts and a unifying hypothesis.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.
32, 353 (1967)
32. EDELMAN, G.M.: Dissociation of gamma-globulin.
J.Am.Chem.Soc. 81, 3155 (1959)
33. EDELMAN, G.M. and J.A. GALLY:
The nature of Bence-Jones proteins.
J.exp. Med. 116, 207 (1962)
34. EDELMAN, G.M. and M.D. Poulik:
Studies on structural units of the
gamma-globulins.
J.exp.Med. 113, 861 (1961)
35. VAN EIJK, H.G. and C.H. MONFOORT:
Group-characteristic differences
in amino acid composition between
Bence-Jones proteins of Burtin's
types I and II.
Biochem.Biophys.Acta 86, 410 (1964)
36. EIN, D. and J.L. FAHEY:
Two types of lambda polypeptide chains
in human immunoglobulins.
Science 156, 947 (1967)
37. ELLMAN, L.L. and K.J. BLOCH:
Heavy chain disease.
Report of seventh case.
New England J.Med. 278, 1195 (1968)
38. EPSTEIN, W.V., S.W. FANG and M. TAM:
Naturally occurring macroglobulin
antibody of foetal origin in the
normal human newborn.
Immunology 10, 259 (1966)

39. EULITZ, M.: Bence-Jones-Proteine.
Blut 18, 294 (1969)
40. FAHEY, J.L.: Two types of 6.6S gamma-globulins,
beta2A-globulins and 18S gamma-
macroglobulins in normal serum and
gamma-microglobulins in normal
urine.
J. Immunol. 91, 438 (1963)
41. FAHEY, J.L. and S.D. LAWLER:
Gm factors in normal immunoglobulin
fractions, myeloma proteins and
macroglobulins.
J.Nat.Cancer Inst. 27, 973 (1961)
42. FAHEY, J.L. and A. SOLOMON:
Two types of gamma-myeloma proteins,
beta2a-myeloma proteine, gamma1-
macroglobulins and Bence-Jones pro-
teins identified by two groups of
common antigenic determinants.
J.clin.Invest. 42. 811 (1963).
43. FATEH-MOGHADAM, A.: Unpublizierte Mitteilungen
44. FATEH-MOGHADAM, A., H. WÜRZ, R.M. OESER und M.KNEDEL:
Doppelparaproteinämien.
Ltsch.Med.Wschr. 93, 1695 (1968)
45. FEINSTEIN, D. and E.C. FRANKLIN:
Two subclasses of human A myeloma
proteins differing in their heavy
chains.
Nature 212, 1496 (1966)
46. FLEISCHMAN, J.B., R.H. PAIN and R.R. PORTER:
Reduction of gamma globulins.
Arch.Biochem.Biophys.Suppl. 1, 174
(1962)

47. FLEISCHMAN, J.B., R.R. PORTER and E.M. PRESS:
The arrangement of the peptide chains
in gamma-globulin.
Biochem. J. 88,220 (1963)
48. FRANEK, F.:
Dissociation of animal 7S-gamma-glo-
bulins by cleavage of disulfide
bands.
Biochem. Biophys.Res.Comm. 4. 28
(1961)
49. FRANGIONE, B., F. PRELLI and E.C. FRANKLIN:
The structure of Fd fragments of
G-myeloma proteins.
Immunochem. 4, 65 (1967)
50. FRANKLIN, E.C.:
Structural units of human 7S-gamma
globulin.
J.clin.Invest. 39, 1933 (1960)
51. FRANKLIN, E.C.:
Two types of gammaIA-globulin in sera
from normals and patients with
multiple myeloma.
Nature 195, 393 (1962)
52. FRANKLIN, E.C.:
The immunoglobulins. Their structure
and function and some techniques for
their isolation.
Progr. Allergy 8, 58 (1964)
in Karger Basel/New York
53. FRANKLIN, E.C.:
Structure of antibodies.
Textbook of Immunopathology 3, 25
(1967)
54. FRANKLIN, E.C., H. FUDENBERG and M. MEITZER:
The immune globulins: their structure,
function and genetic control.
Proc. XI Colloquium Protides of the
biol. Fluids pp 23 Elsevier, Amster-
dam

55. FRANKLIN, E.C., H. FUDENBERG, M. MELTZER and D.R. STAN-
WORTH: The structural basis for genetic
variations of normal human gamma-
globulin.
Proc.Nat.Acad.Sc. 48, 914 (1962)
56. FRANKLIN, E.C., J. LÖWENSTEIN, B. BIGELOW and M. MELTZER:
Heavy chain disease. A new disorder
of serum gamma globulins.
Am.J.Med. 37, 332 (1964)
57. GIVOL, D. and F. DELORUNZO:
The position of various cleavages
of rabbit immunoglobulin G.
J.Biol.Chem. 243, 1886 (1968)
58. GLEICHMANN, E. und H. DEICHER:
Quantitative Immunglobulinbestimmung-
gen im Serum bei entzündlichen Le-
berkrankheiten.
I. Normalwerte und Untersuchungen im
Verlauf der akuten Hepatitis.
Klin.Wschr. 46, 171 (1968)
59. GOTTLIEB, P.D., B.A. CUNNINGHAM, M.J. Waxdal, W.H. KÖNIGS-
BERG and G.M. EDELMAN:
Variable regions of heavy and poly-
peptide chains of the same gamma-G-
immunoglobulin molecule.
Proc.Nat.Acad.Sc. 61, 168 (1968)
60. GRABAR, P., R. FAUVERT, P. BURTIN et L. HARTMANN:
L'analyse immunoélectrophorétique
des sérums de myélomes.
C.R.Acad.Sci. (Paris) 241, 262 (1955)
61. GRABAR, P., R. FAUVERT, P. BURTIN et L. HARTMANN:
Etude sur les protéines du myélome.
2. L'analyse immunoélectrophorétique
des sérums de 30 malades.
Rev.franc.Et.clin.biol. 1, 175 (1956)

62. GRABAR, P. and C.A. WILLIAMS:
Méthode permettant l'étude conjuguée
des propriétés électrophorétiques
et immunochimiques d'un mélange de
protéines application au sérum
sanguin.
Biophys. Biochem. Acta 10, 193 (1953)
63. GRASSMANN, W. und K. HANNIG:
Ein einfaches Verfahren zur Analyse
der Serumproteine und anderer Pro-
teingemische.
Naturwissenschaften 37, 496 (1950)
64. GRAY, W.R., W.J. DREYER and L. HOOD:
Mechanism of antibody synthesis:
Size differences between mouse kappa
chains.
Science 155, 465 (1967)
65. GREY, H.M. and H.G. KUNKEL:
H chain subgroups of myeloma pro-
teins and normal 7S gamma-globulin.
J. exp. Med. 120, 253 (1964)
66. GRUBB, R.:
The existence of human serum groups.
Acta pathol. microbiol. Scand. 39, 195
(1956)
67. HÄLLEN, J.:
Frequency of abnormal serumglobulins
(M-components) in the aged.
Acta med. Scand. 173, 737 (1963)
68. HÄSSIG, A.:
Die Antigenstruktur der Paraproteine
Ergeb. d. mikrobiol. Immunitätsfor-
schung u. exp. Therapie. Springer
Verlag Berlin 1961
69. HAMMACK, W.J.:
Idiopathie paraproteinemia.
Clin. Res. 13, 274 (1965)

70. HARBOE, M., J.DEVERILL and H.C.GODAL:
Antigenic heterogeneity of Walden-
ström type gammaM-globulins.
Scand.J.Haemat. 2, 137 (1965)
71. HARBOE, M., R.v.FURTH, H. SCHUBOTHE, K. LIND and R.S.
EVANS: Exclusive occurrence of kappa chains
in isolated cold haemagglutinins.
Scand.J.Haemat. 2,259 (1965)
72. HARBOE, M., C.K. OSTERLAND, M. MANNIK and H.G. KUNKEL:
Genetic characters of human gamma-
globulins in myeloma proteins.
J.exp.Med. 116, 719 (1962)
73. HEREMANS, J.F.: Immunochemical studies on proteins
pathology: the immunoglobulin-
concept
Clin.Chim.Acta 4, 639 (1959)
74. HEREMANS, J.F. and M.Th. HEREMANS:
Immunelectrophoresis.
Acta Scand. Med. 367, 27 (1961)
75. HILL, R.L., R. DELAREY, H.E. LEBOVITZ and R.E. FELOWS:
Studies on the amino acid sequence
of heavy chains from rabbit immuno-
globulin G.
Proc. Roy.Soc.B. 166, 159 (1966)
76. HILSCHMANN, N.: Die chemische Struktur von zwei Bence-
Jones-Proteinen (Roy und Cum).
vom Kappa-Typ.
Z.Phys.Chem. 348, 1077 (1967)
77. HILSCHMANN, N.: Die vollständige Aminosäuresequenz
des Bence-Jones-Protein (Cum (Kappa-
Typ)).
Hoppe Seyler's Z.Phys.Chem. 348,
1718 (1967)

78. HILSCHMANN, N. and L.C. CRAIG:
Amino acid sequence studies with
Bence-Jones protein.
Proc.Nat.Acad.Sc. 53, 1403 (1965)
79. HITZIG, W.H.: Die physiologische Entwicklung der
"Immunglobuline" (Gamma- und Beta-
Globuline).
Helv.paediat.Acta 12, 596 (1957)
80. HOBBS, J.R., G.M. SLOT, C.H. CAMBELL, J.T. SCOTT,
D. CROWTHER and H.T. SWAN:
Six cases of gamma-D myelomatosis.
Lancet 17, 618 (1966)
81. JOHANSSON, S.G.O. and H. BENNICH:
Immunological studies of an atypical
immunoglobulin.
Immunology 13, 381 (1967)
82. KLEMM, D.: Die paraproteinämischen Hämoblasto-
sen.
Erg.Inn.Med.u.Kinderheilkund
Springer Verlag pp 109 (1966)
83. KLEMM, D.: Erscheinungsbild paraproteinämischer
Erkrankungen.
Fortschritte d. Med. 24, 941 (1966)
84. KLEMM, D., H. SCHUBOTHE, H. HEIMPEL u. H.D. KASEMIR:
Gamma-D-Paraproteinämie bei Plasmoc-
yтом.
Klin.Wschr. 45, 590 (1967)
85. KORNGOLD, L.: Abnormal plasma components and their
significance disease.
Am.N.Y.Acad.Sc. 94, 110 (1961)
86. KORNGOLD, L. and R. LIPARI:
Multiple myeloma proteins.
I. Immunological studies.
Cancer 9, 183 (1956)

87. KORNGOLD, L. and R. LIPARI:

Multiple myeloma proteins. III. The antigenic relationship of Bence-Jones proteins to normal gamma-globulins and multiple myeloma serum proteins. Cancer 9, 262 (1956)

88. KUNKEL, H.G. and R.A. PRENDERGAST:

Subgroups of gamma-A immunoglobulins. Proc.Soc.exp. Biol.Med. 122, 910 (1966)

89. KUNKEL, H.G., R.J. SLATER and R.A. GOOD:

Relation between certain myeloma proteins and normal gamma globulins. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 76, 190 (1951)

90. LAMERZ, R., A. FATEH-MOGHADAM, M. KNEDEL und D. MENSING:

Über das Bence-Jones-Plasmozytom. Münch.Med.Wschr. 110, 2427 (1968)

91. LAURELL, C.B. and J. SNIGUROWICZ:

The frequency of kappa and lambda chain in pathologic serum gammaG, gamma-A, gamma-D and gamma microglobulins. Scand.J.Haemat. 4, 46 (1967)

92. LEE, B.J., L. KORNGOLD and M.J.WEINER:

Mephalan and antigenic type of Bence-Jones proteins in myeloma. Science 149, 564 (1965)

93. MÄRKI, H.H. und F. WUHRMANN:

Häufigkeit und klinische Bedeutung der Paraproteinämien. Klin.Wschr. 43, 85 (1965)

94. MÄRKI, H.H., F. WUHRMANN und A. LARGIADER:
Zur Bedeutung der immunoelektrophoretischen Typendifferenzierung von Gamma2-Myelomparaproteinen.
Klin.Wschr. 43, 677 (1965)
95. MANNIK, M. and H.G. KUNKEL:
Classification of myeloma proteins, Bence-Jones proteins and macroglobulins in to two groups on the basis of common antigenic characters.
J.exp.Med.116, 859 (1962)
96. MANNIK, M. and H.G. KUNKEL:
Two major Types of normal 7S-gammaglobulin.
J.exp.Med. 117, 213 (1963)
97. MARTENSSON, L.:
Gm characters of M-components.
Acta med. Scand. 170, 367 (1961)
98. MEISER, J. und K. HUHNSTOCK:
Atypische Paraproteinosen.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med.pp 821 (1967)
99. MELLORS, R.C. and L. KORNGOLD:
Cellular origin of human immunoglobulins (Gamma2, gammalM, gammalA)
J. exp. Med. 118, 387 (1963)
100. MICHAUX, J.L. and J.F. Heremans:
Thirty cases of monoclonal immunoglobulin disorders other than myeloma or macroglobulinemia.
Am.J.Med. 46,562 (1969)
101. MICHOT, F.:
Gamma-D-Plasmozytöm und progressive Muskeldystrophie, eine Kombination von zwei seltenen Krankheitsbildern.
(Schweiz.Med.Wschr.98,1598 (1968))

102. MIGITA, SH. and F.W.PUTNAM:
Antigenic relationship of Bence-Jones proteins, myeloma globulins and normal human gamma-globulins. *J.exp.Med.* 117, 81 (1963)
103. MILSTEIN, C.:
Disulphide bridges and dimers of Bence-Jones protein. *J. Mol. Biol.* 9, 836 (1964)
104. MILSTEIN, C.:
Interchain disulphide bridge in Bence-Jones proteins and in gamma-globulin B-chains. *Nature* 205, 1171 (1965)
105. MILSTEIN, C.:
Chemical structure of light chains. *Proc.Roy.Soc. (London) Ser.B.* 166, 138 (1966)
106. MILSTEIN, C.:
The disulphide bridges of immunoglobulin alpha-chains. *Biochem. J.* 101, 338 (1966)
107. MILSTEIN, C., J.B. CLEGG and J.M. JARVIS:
C-terminal half of immunoglobulin lambda chains. *Nature* 214, 270 (1967)
108. MILSTEIN, C., B. FRANGIONE and R.L.J. PINK:
Studies on the variability of immunoglobulin sequence. *Cold Spring Harbor Symp.Quant.Biol.* 32, 31 (1967)
109. MUL, N.A.J., J.W. IMHOF, R.E. BALLIEUX and H. POEN:
Monoclonal and diclonal gammopathies. *Acta med.Scand.* 441, 102 (1965)

110. NATVIG, J.B., H.G. KUNKEL and T. GEDDE-Dahl jr.:
Genetic studies of the heavy chain
subgroups of gamma-G-globulin.
Recombination between closely
linked cistrons.
Nobel Symp. 3, 313 (1967)
111. OLINS, D.E. and G.M. EDELMAN:
The antigenic structure of the poly-
peptide chains of human gammaglo-
bulin.
J.exp.Med.116, 635 (1962)
112. OSSERMAN, E.F.: Mephalaan and antigenic type of
Bence-Jones proteins in myeloma.
Science 149, 564 (1965)
113. OSSERMAN, E.F. and K.TAKATSUKI:
Plasma-cell-myeloma: gammaglobulin
syntheses and structure. A review
of biological and clinical data
with the discription of a newly
recognized and related syndrome
H-Gamma2-chain (Franklin's disease).
Medicine, 42, 357 (1963)
114. OUCHTERLONY, Ö.: Antigen-antibody reaction in gels.Ark,
Kemi B 26, 1 (1949)
115. OUCHTERLONY, Ö.: Diffusion-in-gel methods for immuno-
logical analysis.
Progr. Allergy 5, 1 (1958)
116. OUDIN, J.: Méthode d'analyse immunochimique
par precipitation spécifique en
milieu gélific.
C.R.Acad.Sc(Paris) 222, 115 (1946)
117. OUDIN, J.: Specific precipitation in gels and
its application to immunochemical
analysis.
Meth.med.Res. 5, 335 (1952)

118. OUDIN, J.: Allotypy of rabbit serum proteins.
I. Immunochemical analysis leading to the individualization of seven main allotypes.
J.exp.Med. 112, 107 (1960)
119. OVARY, Z. and F. KARUSH: Studies on the immunologic mechanism of anaphylaxis. II. Sensitizing and combining capacity in view of fractions separated from papain digests of antihapten antibody.
J.Immunol. 86, 146 (1961)
120. PALMER, J.L., W.J. MANDY and A. NISONOFF: Heterogeneity of rabbit antibody and its subunits.
Proc.Nat.Acad.Sc.U.S.48, 49 (1962)
121. PERNIS, B. and G. CHIAPPINO: Identification in human lymphoid tissues of cells produce group I or group II gamma-globulins.
Immunology 7, 500 (1964)
122. PICK, A.J. and E.F. OSSERMAN: Amyloidosis associated with plasma cell dyscrasias.
In: Amyloidosis. Mandema, E., L.Ruinen, J.H. Scholten and A.S. Cohen: Excerpta med. Found. Amsterdam pp 100 (1969)
123. PORTER, R.R.: The hydrolysis of rabbit gamma-globulins and antibodies with crystalline papain.
Biochem. J. 73, 119 (1959)

124. PORTER, R.R.: The structure of gamma-globulin and antibodies.
In: Basic problems of neoplastic disease.
A. Gellhorn and E. Hirschberg pp 177
(1962) Columbia University Press
New York and London
125. PORTER, R.R.: The structure of the heavy chain of immunoglobulin and its relevance of the nature of the antibody-combining site.
Biochem. J. 105, 417 (1967)
126. POTTER, M.: Plasmacell neoplasia in single host: mosaic of different protein-producing cell types.
J.exp.Med. 115, 339 (1962)
127. POULIK, M.D. and G.M. EDELMAN: Comparison of reduced alkylated derivatives of some myeloma globulins and Bence-Jones globulins.
Nature, 191, 1274 (1961)
128. PRESS, E.M. and P.J. PIGGOT: The chemical structure of heavy chains of human immunoglobulin G.
Cold Spring Harbor Symp.Quant.Biol. 32, 45 (1967)
129. PUTNAM, F.W.: Structural relationships among normal human gamma-globulin, myeloma globulins and Bence-Jones proteins.
Biochem.Biophys.Acta 63, 539 (1962)
130. PUTNAM, F.W.: Immunoglobulin structure: variability and homology.
Science 163, 633 (1969)

131. PUTNAM, F.W. and C.W. EASLEY:
Structural studies of the immunoglobulins. I. Tryptic peptides of Bence-Jones proteins.
J.Biol.Chem. 240, 1626 (1965)
132. PUTNAM, F.W., C.W. EASLEY and J.W. HELLING:
Structural studies of human gamma-globulin through the analysis of the tryptic peptides of Bence-Jones proteins.
Biochem.Biophys.Acta 78, 231 (1963)
133. PUTNAM, F.W., T. SHINODA, K. TITANI and M. WIKLER:
Immunoglobulin structure: variation in amino acid sequence and length of human lambda chains.
Science 157, 1050 (1967)
134. PUTNAM, F.W., K. TITANI and E. WHITLEY:
Chemical structure of light chains: amino acid sequence of type kappa.
Proc.Roy.Soc.Ser.B 166, 124 (1966)
135. PUTNAM, F.W., K. TITANI, M. WIKLER and T. SHINODA:
Structure and evolution of kappa and lambda light chains.
Cold Spring Harbor Symp. Quant.Biol. 32, 9 (1967)
136. RENTSCH, J.:
Gamma-D-Plasmozytom.
Med-Welt 20, 1304 (1968)
137. RITZMANN, S.E. and W.C. LEVIN:
Polyclonal and monoclonal gammopathies.
Lab. Synopsis 2, 9 (1967)
138. RIVA, G.:
Das Serum-eiweißbild.
H. Huber Verlag Bern 1957

139. RIVA, G.: Idiopathische und Begleitparaproteinämien.
Helv.Med.Acta 31, 285 (1964)
140. RIVA, G.: Die Bedeutung des Serumeiweißbildes in der Differentialdiagnose innerer Krankheiten.
Schweiz.Med.Wschr. 94, 1706 (1964)
141. ROPARTZ, C.J., J. LENOIR and L. RIVAT:
A new inheritable property of human serum.
Nature 189, 586 (1961)
142. ROSEN, B.J., T.W. SMITH and K.J. BLOCH:
Multiple myeloma associated with two serum M-components IgG type K and IgA type L.
New England J.Med. 277, 902 (1967)
143. ROSER, H.: Bemerkungen zum Nachweis von Paraproteinämien und ihrer klinischen Bedeutung.
Dtsch.Med.Wschr. 93, 1324 (1968)
144. ROULET, D.L.A., G.A. SPENGLER and A. HÄSSIG:
Immunophoretical studies on paraproteins.
Vox.Sang. 7, 281 (1962)
145. ROWE, D. S. and J.L. FAHEY:
A new class of human immunoglobulins.
I. A unique myeloma protein.
J.exp.Med. 121. 171 (1964)
146. ROWE, D.S. and J.L. FAHEY:
A new class of human immunoglobulins.
II. Normal serum IgD.
J.exp.Med. 121. 185 (1964)
147. SCHEIDEGGER, J.J.: Une micro-méthode de l'immunélectrophorese.
Int.Arch.Allergy 7, 103 (1955)

148. SCHEURLLEN, F.G.: Atypische Gammaglobuline bei nicht hämatologischen Erkrankungen.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 451 (63) 69.
Congr.Inn.Med.Bergmann j.F. München
149. SCHNEIDER, W.: Seltene Paraproteinämien.
Dtsch.Med.Wschr. 92, 2172 (1967)
150. SCHWARTZ, J.H. and G.M. EDELMAN:
Comparison of Bence-Jones proteins and L-polypeptide chains of myeloma globulins after hydrolysis with trypsin.
J.exp.Med. 118, 41 (1963)
151. SELIGMANN, M.: Données générales sur la classification et la structure des immunoglobulines humaines.
C.A.N.DO.med.: AHO1 c.Le Poumon et le Coeur, T. 25 no. 4 pp 321 (1969)
152. SELIGMANN, M., F. DANON, D.Hurez, E. MIHAESCO and J.-L. PREUD'HOMME: Alpha-chain disease: a new immunoglobulin abnormality.
Science 162, 1396 (1968)
153. SMALL, P.A. R.A. REISFELD and S. DRAY:
Peptide maps of rabbit gamma-G-globulin heavy chains controlled by allelic genes.
J.Med.Biol. 16, 328 (1966)
154. SOLOMON, A., L.J. FAHEY and R.A. MALMGREN:
Immunohistologic localisation of gamma1-macroglobulins, beta2A myeloma proteins, 6,6Sgamma myeloma proteins and Bence-Jones proteins.
Blood 21, 403 (1963)
155. SPENGLER, G.A., R. PFLUGHAUPT, V. LOPEZ und S.BARANDUN:
Gamma-D-Paraproteinämie. Kasuistischer Beitrag anhand von zwei Beobachtungen.
Schweiz.Med.Wschr. 97, 170 (1967)

156. STEINBERG, A.G., J. WILSON and S. LANSET:
A new human gammaglobulin factor
determined by an allelic at the Inv
locus.
Vox Sang. 7, 151 (1962)
157. STUDER-WOBMANN, E. and F. KOLLER:
Paraproteinemia, Bence-Jones protein-
uria and amyloidosis.
Acta med.Scand. 179, 147 (1966)
158. TARANTA, A. and E. C. FRANKLIN:
Complement fixation by antibody
fragments.
Science 134, 1981 (1961)
159. TERRY, W.D. and J.L. FAHEY:
Subclasses of human gamma2-globulin
based in differences in the heavy-
polypeptide chain.
Science 146, 400 (1964)
160. TERRY, W.D. and M.S. ROBERTS:
Antigenic heterogeneity of human
immunoglobulin A proteins.
Science 153, 1007 (1966)
161. TISCHENDORF, F.W.: Immunochemische Charakterisierung der
L- und H-Ketten der monoklonalen
Immunglobuline beim multiplen Myelom,
M. Waldenström und Heavy-Chain-
Disease.
Med. Welt 19, 2531 (1968)
162. TISELIUS, A. and E.A. KABAT:
An electrophoretic study of immune
sera and purified antibody prepara-
tions.
J.exp.Med. 69, 119 (1939)

163. TITANI, K., E. WHITLEY, L. AVOGARDO and F.W. PUTNAM:
Immunoglobulin structure: partial
amino acid sequence of a Bence-
Jones protein.
Science 149, 1090 (1965)
164. VAERMAN, J.P. and J.F. HEREMANS:
Subclasses of human immunoglobulin
based on differences in the alpha-
polypeptide chain.
Science 153, 647 (1966)
165. VENTURO, V. et N. QUATRIN:
Studio un caso di mieloma IgD.
Haematologica 51, 545 (1966)
166. WALDENSTRÖM, J.: Biochemical findings in material of
296 sera with M-type gammaglobulins.
Acta med. Scand. 367, 110 (1961)
167. WALDENSTRÖM, J.: The occurrence of benign essential
monoclonal (m-type) non macromole-
cular hypergammaglobulinemia and
its differential diagnosis.
IV. Studies in gammopathies.
Acta med. Scand. 176, 345 (1964)
168. WEISE, W. und M. KESSEL:
Symptomatische Paraproteinämien.
Kong.Inn.Med. LXXV, 689 (1969)
169. WIEDERMANN, D., B. WIEDERMANN, J. RADL, F. SKVARIL und
J.P. VAERMAN: Über einen Fall von Immunoglobulin-
D-Plasmozytom.
Schweiz.Med.Wschr. 97, 207 (1967)
170. WIKLER, M.K. TITANI, T. SHINODA and F.W. PUTNAM:
The complete amino acid sequence
of a lambda type Bence-Jones pro-
tein.
J. Biol. Chem. 242, 1668 (1967)

171. WILLIAMS, R.C., R.C. BALLY and R.B. HOWE:
Studies of benign serum M-components.
Am.J.Med.Sc. 257, 275 (1969)
172. WOLLHEIM, F.A. and J.SNIGURCOWICZ:
Studies on the macroglobulins of
human serum. IV: the frequency of
light chain types kappa and lambda
in polyclonal and monoclonal gamma-M.
Scand.J.Haemat. 4, 111 (1967)
173. WUHRMANN, F. und H.H. MÄRKI:
Dysproteinämien und Paraproteinämien.
Verlag Schwabe und Co. Stuttgart/
Basel 1963
174. WUHRMANN, F., CH.WUNDERLY, A.HÄSSIG und F.HUGENDOBLE:
Immunserologische Untersuchungen
über Paraproteine.
Helv.med.Acta 16, 279 (1949)
175. ZAWADZKI, Z.A. and R.J. RUBINI:
D-myeloma.
Arch.Intern.Med. 119, 387 (1967)

Die vorliegende Arbeit wurde an der 1. Medizinischen Klinik der Universität München (Direktor: Professor Dr. H. Schwiegk) und am Klinisch-Chemischen Institut des Städtischen Krankenhauses München-Harlaching (Chefarzt Privatdozent Dr. M. Knedel) durchgeführt.

Herrn Professor Dr. H. Schwiegk und Herrn Privatdozent Dr. M. Knedel erlaube ich mir für die freundliche Überlassung des Themas, des Institutmaterials, der Benützung der Institutseinrichtungen und die Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. A. Fateh-Moghadam für die Hilfe und vielseitige Anregung bei der Arbeit.

Den Damen Frä. Ihde, Frä. Kirzeder und Frä. Strunk danke ich für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung.

L E B E N S J A H R .

Am 29.12.1936 wurde ich als letztes von 3 Kindern dem verstorbenen praktischen Arzt, Dr.med. Franz Zydek und seiner Ehefrau Magdalena, geb. Babczinski, in Gleiwitz O/S geboren.

Im September 1943 trat ich in die Volksschule meiner Heimatstadt ein, die ich bis zu der Vertreibung, im Januar 1945, besuchte.

Seit Februar 1945 lebe ich in Oberbayern. Zunächst besuchte ich in Obermühlhausen die Volksschule. Nach bestandener Aufnahmeprüfung wechselte ich im September 1947 in die Oberrealschule zu Landsberg am Lech über, an der ich im Juni 1956 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1956/57 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Ludwig Maximilian Universität zu München und bestand nach 11 Semestern am 27.7.1962 das Staatsexamen.

Nach abgeleisteter 2-jähriger Medizinalassistentenzeit erhielt ich am 2.12.1964 die Bestallung als Ärztin. Am 1.3.1965 begann ich am Klinikum Rechts der Isar mit der Ausbildung zur Fachärztin für Anästhesie. Die Anerkennung als Anästhesistin wurde mir am 3.7.1969 von der bayerischen Landesärztekammer zugesprochen. Mit Rücksicht auf die Fertigstellung der Dissertation habe ich am 1.10.1969 das Arbeitsverhältnis am Klinikum Rechts der Isar gelöst.

